I707854

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本　**(11)證書號數：TW I707854 B**

(45)公告日： 中華民國 109 (2020) 年 10 月 21 日

(21)申請案號：107120678　(22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 09 月 02 日

(51)Int. Cl.：　*C07D471/18 (2006.01)*

(30)優先權：2015/09/04　美國　62/214,727

2015/09/04　美國　62/214,734

(71)申請人：比利時商健生藥品公司 (比利時) JANSSEN PHARMACEUTICA N. V.　(BE)

比利時

(72)發明人：戴科特　巴特 DECORTE, BART LIEVEN DANIEL (BE)；拉斯查　雅各 RUSSCHER, JACOB CORNELIS (NL)；孟納　門諾 MONNEE, MENNO CORNELIS FRANCISCUS (NL)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

(56)參考文獻：

WO　2014/152621A1　　WO　2014/159591A1

審查人員：徐永任

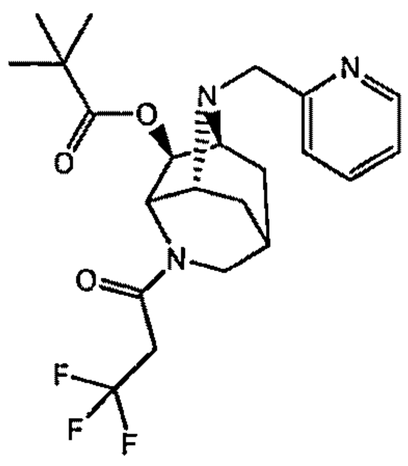
申請專利範圍項數：22 項　　圖式數：25　　共 104 頁

(54)名稱

用於疼痛之治療性化合物及其合成

(57)摘要

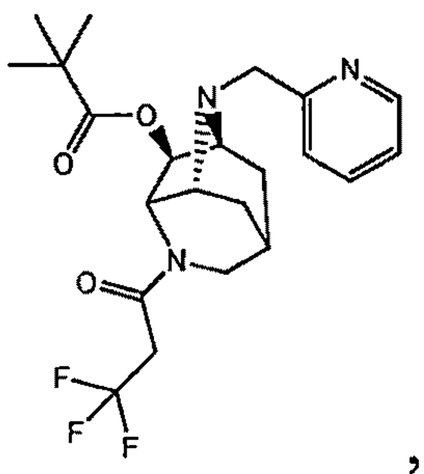
本發明提供式 1 化合物：



、

及其立體異構物、醫藥上可接受的鹽、及衍生物；及製造及使用此等化合物之方法。本發明包括含有此等化合物之醫藥組成物，及此等化合物在治療病況、疾病或病症之方法中之用途。

The invention provides compounds of Formula 1:



,

and stereoisomers, pharmaceutically acceptable salts and derivatives thereof; and methods of making and using such compounds. The invention includes pharmaceutical compositions containing such compounds, and the use of such compounds in methods of treating conditions, diseases, or disorders.

I707854

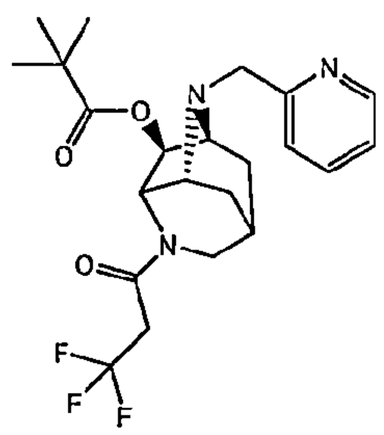
發明摘要

【發明名稱】 用於疼痛之治療性化合物及其合成

THERAPEUTIC COMPOUNDS FOR PAIN AND SYNTHESIS THEREOF

【中文】

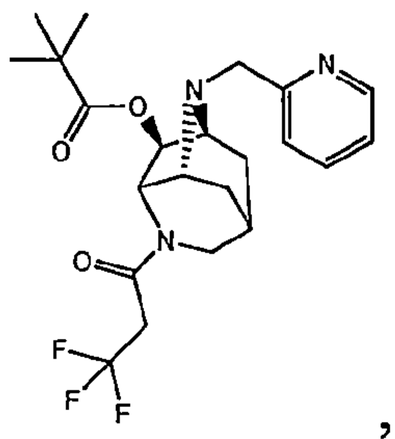
本發明提供式 1 化合物：



及其立體異構物、醫藥上可接受的鹽、及衍生物；及製造及使用此等化合物之方法。本發明包括含有此等化合物之醫藥組成物，及此等化合物在治療病況、疾病或病症之方法中之用途。

【英文】

The invention provides compounds of Formula 1:



and stereoisomers, pharmaceutically acceptable salts and derivatives thereof; and methods of making and using such compounds. The invention includes pharmaceutical compositions containing such compounds, and the use of such compounds in methods of treating conditions, diseases, or disorders.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】 用於疼痛之治療性化合物及其合成

THERAPEUTIC COMPOUNDS FOR PAIN AND SYNTHESIS THEREOF

【相關申請案之交互參照】

【0001】 本專利申請案主張 2015 年 9 月 4 日申請之美國臨時申請案第 62/214,727 號及 2015 年 9 月 4 日申請之美國臨時申請案第 62/214,734 號之權益，其中之每一者全文以引用方式併入本文。

【技術領域】

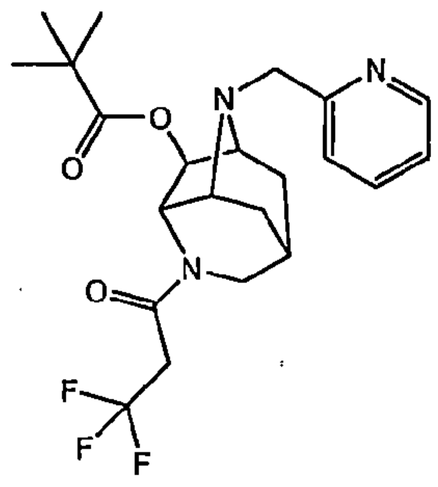
【0002】 本發明提供新的醫藥上活性化合物，其可用於治療動物、哺乳動物及人之病況及病症。

【先前技術】

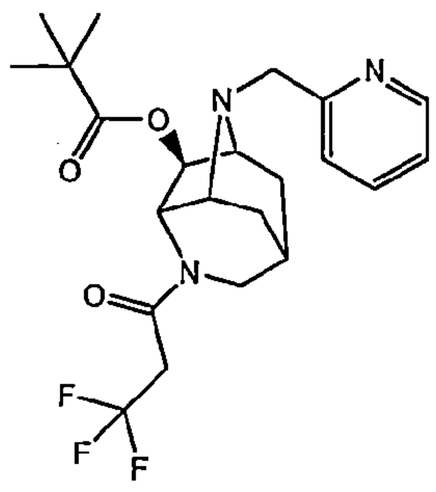
【0003】 具有醫藥活性之新的化合物可用於治療先前不可治療之病況、用於與習知醫藥化合物可達成者相比更好地治療病況、及用於治療先前以習知醫藥化合物可治療的病況，但是彼等現在不再可有效地治療的病況。舉例而言，此類化合物可用於已進化至成為具抗藥性的細菌或病毒傳染媒介物之情況中。

【發明內容】

【0004】 本發明提供式 1 化合物：



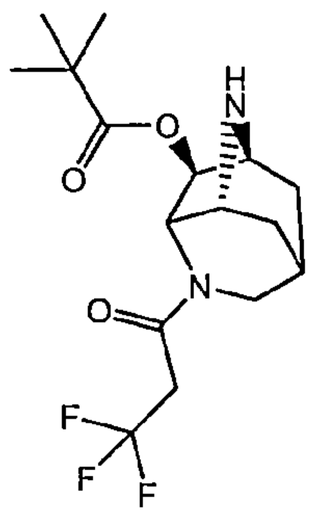
【0005】 在某些實施例中，式 1 係



((2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-1-(吡啶-2-基甲基)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基三甲基乙酸酯)。

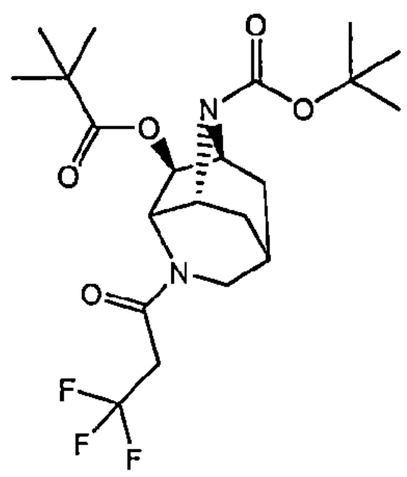
【0006】 在某些實施例中，本發明包括一種含有式 1 化合物及/或其衍生物之醫藥組成物。在一個實施例中，本發明包括一種包含式 1 化合物及/或其衍生物及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑的醫藥組成物。在另一實施例中，本發明提供一種用於治療患有病況、疾病或病症之個體（人或動物）的方法，其包含向該個體投予有效量之式 1 化合物或其衍生物。在一個實施例中，係投予該化合物以實現局部遞送至該個體。在另一實施例中，係投予該化合物以實現全身遞送至該個體。在進一步實施例中，式 1 化合物或其衍生物係用作藥物、或用於製造藥物。在一些實施例中，該病況或病症係神經性疼痛或慢性疼痛。

【0007】 在其他實施例中，該方法包括製造式 1 化合物：



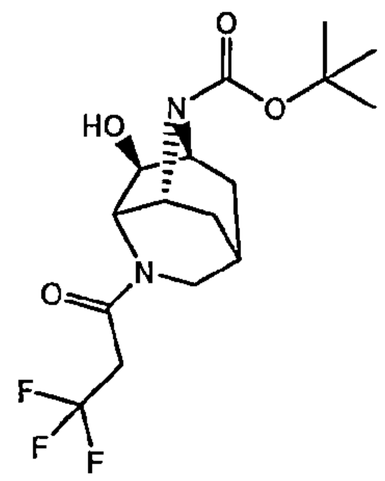
在一個此類實施例中，製造式 1 化合物之方法包括使式 2 化合物：(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基三甲基乙酸酯與 2-吡啶羧醛在還原劑存在下反應。在一些實施例中，2-吡啶羧醛係在還原劑之前加入。在某些實施例中，還原劑係三乙醯氧基硼氫化鈉。在一些實施例中，式 1 化合物係經掌性分離。

【0008】 在一些實施例中，該方法亦可包括製造式 2 化合物。在一實施例中，製造式 2 化合物之方法包括使式 3 化合物：



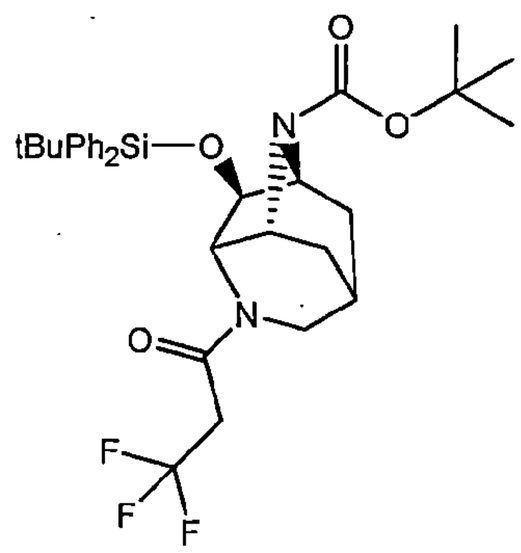
(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-(三甲基乙醯基氧基)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與酸反應。在某些實施例中，酸係三氟乙酸。

【0009】 在一些實施例中，該方法亦可包括製造式 3 化合物。在一實施例中，製造式 3 化合物該方法包括使式 4 化合物：



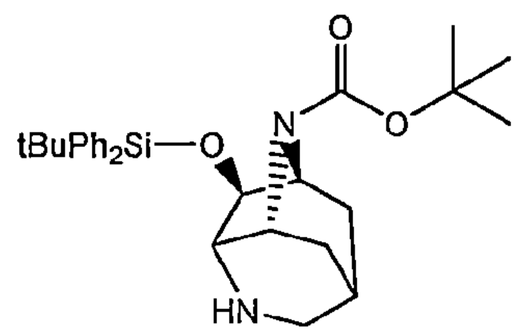
(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-羥基-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與二甲基胺基吡啶(DMAP)反應。

【0010】 在一些實施例中，該方法亦可包括製造式 4 化合物。在一實施例中，製造式 4 化合物之方法包括使式 5 化合物：

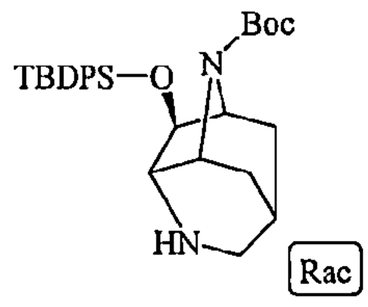


(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)-4-(3,3,3 三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與三級丁基二苯基氯矽烷反應。在一些實施例中，該反應進一步包含吡啶。

【0011】 在一些實施例中，該方法亦可包括製造式 5 化合物。在一實施例中，製造式 5 化合物之方法包括使式 6.b 化合物：

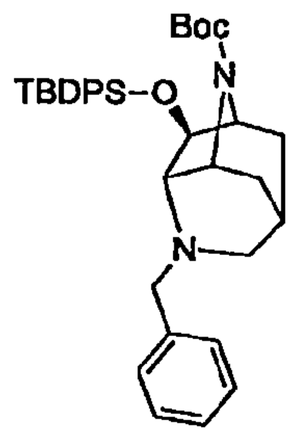


(2S*,3R*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與 3,3,3-三氟丙酸反應。在一些實施例中，該反應進一步包含 N-N-二異丙基乙基胺。在某些實施例中，該反應進一步包含(六氟磷酸 1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物)三乙醯氧基硼氫化鈉。在一些實施例中，該方法包括掌性分離式 7 化合物：



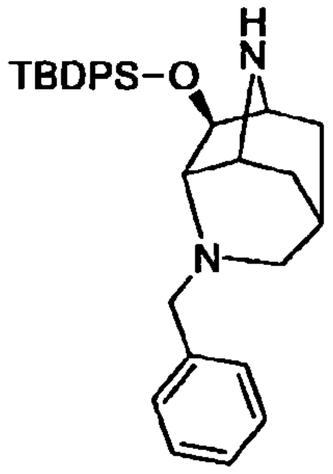
rac-(2S*,3R*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯。

【0012】 在其他實施例中，該方法包括製造式 7 化合物。在一個此類實施例中，製造式 7 化合物之方法包括使式 8 化合物：



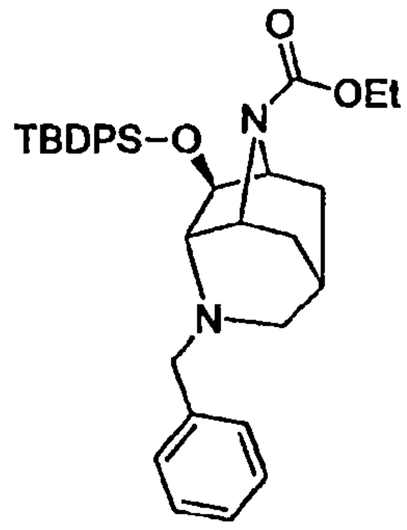
rac-(2R,3S,6S,7aS)-三級丁基 4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與氫反應。該反應可在催化劑存在下執行。在一較佳實施例中，該催化劑包括鈀。例如，該催化劑可為碳載鈀。

【0013】 在其他實施例中，該方法包括製造式 8 化合物。在一個此類實施例中，製造式 8 化合物之方法包括使式 9 化合物：



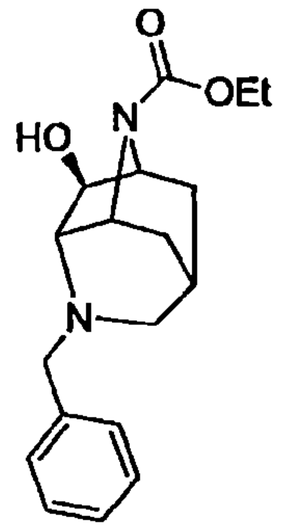
rac-(2R,3R,6S,7aS)-4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶與二碳酸二（三級丁基）酯(Boc_2O)反應，以加上三級丁氧羰基(Boc)保護基。在一較佳實施例中，該反應進一步包含三乙基胺(Et_3N)。

【0014】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 9 化合物。在一個此類實施例中，製造式 9 化合物之方法包括使式 10 化合物：



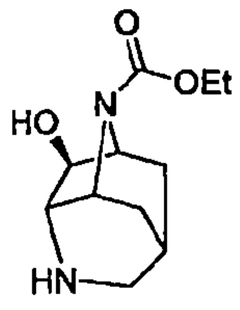
(2R,3R,6S,7aS)-乙基 4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與碘三甲基矽烷反應。

【0015】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 10 化合物。在一個此類實施例中，製造式 10 化合物之方法包括使式 11 化合物：



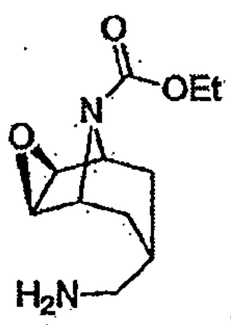
(2R,3S,6S,7aS)-乙基-4-苄基-3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與 TBDPS 反應。在一較佳實施例中，該反應進一步包含咪唑。

【0016】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 11 化合物。在一個此類實施例中，製造式 11 化合物之方法包括使式 12 化合物：



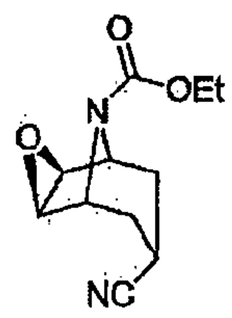
(2R,3S,6S,7aS)-乙基 3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯與苯甲醛反應。在一較佳實施例中，該反應進一步包含三乙醯氧基硼氫化鈉(STAB)。

【0017】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 12 化合物。在一個此類實施例中，製造式 12 化合物之方法包括使式 12.a 化合物：



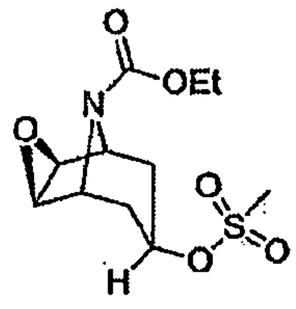
(1R,2R,4S,5S,7s)-乙基 7-(胺基甲基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯在溶劑中環化。該溶劑可為乙醇(EtOH)。

【0018】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 12.a 化合物。在一個此類實施例中，製造式 12.a 化合物之方法包括使式 13 化合物：



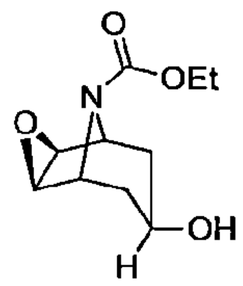
(1R,2R,4S,5S,7s)-乙基 7-氰基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯與氫反應。該反應可在催化劑存在下執行。在一個實施例中，該催化劑包括鎳。例如，該催化劑可為雷氏鎳(Raney-nickel)。

【0019】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 13 化合物。在一個此類實施例中，製造式 13 化合物之方法包括使式 14 化合物：



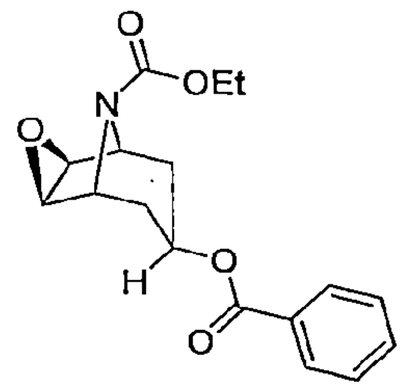
(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-((甲基磺醯基)氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯與氰化鉀反應。在其他實施例中，該反應進一步包含 18-冠-6（1,4,7,10,13,16-六氧雜環十八烷）。

【0020】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 14 化合物。在一個此類實施例中，製造式 14 化合物之方法包括使式 15 化合物：



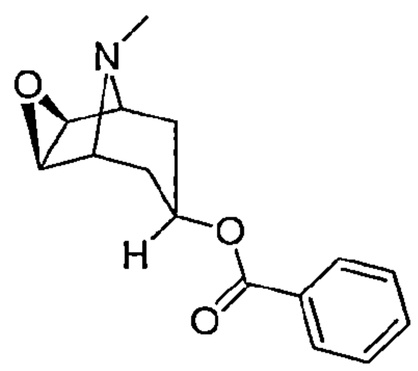
(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-羥基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯與甲磺醯氯反應。在一較佳實施例中，該反應進一步包含三乙基胺(Et_3N)。

【0021】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 15 化合物。在一個此類實施例中，製造式 15 化合物之方法包括使式 16 化合物：



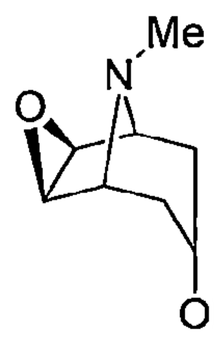
(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-(苯甲醯基氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯與還原劑反應。該還原劑可為硼氫化鈉。

【0022】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 16 化合物。在一個此類實施例中，製造該式 16 化合物之該方法包括使式 17 化合物：



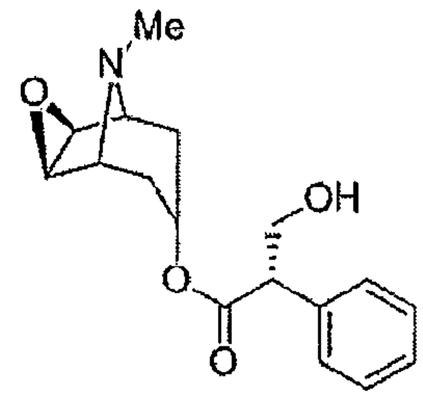
(1R,2R,4S,5S,7r)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-基苯甲酸酯與氯甲酸乙酯反應。在一較佳實施例中，該反應進一步包含鹼。該鹼可為碳酸鉀。

【0023】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 17 化合物。在一個此類實施例中，製造式 17 化合物之方法包括在活化劑存在下使式 18 化合物：



(1R,2R,4S,5S)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-醇)與苯甲酸反應。該活化劑可為偶氮二甲酸二乙酯(DEAD)與三苯基膦(PPh_3)、或偶氮二甲酸二異丙酯(DIAD)與三苯基膦(PPh_3)。

【0024】 在其他實施例中，該方法亦包括製造式 18 化合物。在一個此類實施例中，製造式 18 化合物之方法包括使式 19 化合物：



(2S)-(1R,2R,4S,5S)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-基-3-羥基-2-苯基丙酸酯氫溴酸鹽三水合物（莨菪鹼）與還原劑反應。該還原劑可為硼氫化鈉。在一較佳實施例中，該反應進一步包含異丙醇中之 HCl。

【0025】 在一些實施例中，本文中所述之化合物係用於治療或預防有需要之個體的神經性疼痛。在其他實施例中，本文中所述之化合物係可用於治療或預防有需要之個體的慢性疼痛。

【圖式簡單說明】

【0026】 前述發明內容以及下列實施方式在結合附圖閱讀時可更好地理解。為了說明本發明之目的，該等圖式顯示本發明的實施例。然而，應理解的是，本發明並不受限於所示的確切配置、實例及手段。

圖 1 顯示根據本發明的一個實施例之式 18 化合物的 ^{1H}NMR ($CDCl_3$)分析之結果。

圖 2 顯示根據本發明的一個實施例之式 17 化合物的 MS 分析之結果。

圖 3A 及 3B 顯示式 16 化合物之結構分析之結果。圖 3A 顯示式 16 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。圖 3B 顯示式 16 化合物之 MS 分析之結果。

圖 4 顯示式 15 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 5 顯示式 14 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 6 顯示式 13 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 7 顯示式 12 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 8A 及 8B 顯示式 11 化合物之結構分析之結果。圖 8A 顯示式 11 化合物之 MS 分析之結果。圖 8B 顯示式 11 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 9A 及 9B 顯示式 10 化合物之結構分析之結果。圖 9A 顯示式 10 化合物之 LCMS 分析之結果。圖 9B 顯示式 10 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 10 顯示式 9 化合物之 LCMS 分析之結果。

圖 11A 及 11B 顯示式 8 化合物之結構分析之結果。圖 11A 顯示式 8 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。圖 11B 顯示式 8 化合物之 LCMS 分析之結果。

圖 12A 及 12B 顯示式 7 化合物之結構分析之結果。圖 12A 顯示式 7 化合物之 LCMS 分析之結果。圖 12B 顯示式 7 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 13 顯示式 2 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 14 顯示式 1 化合物之 ^{1H}NMR 分析之結果。

圖 15 顯示根據本發明之一個實施例，自第 8 日至第 14 日每日投予式 1 對於經紫杉醇投劑的小鼠之血液中的 14-3-3σ表現之效果。

圖 16 證明經紫杉醇投劑且以式 1 治療之小鼠的後足底皮膚之 14-3-3σ的改變。如繪示，根據本發明的一個實施例，相對媒劑，重覆以式 1 投劑後，14-3-3σ之表現顯著減少($p<0.01$)。

圖 17 展現以 5 mg/kg 劑量的 IV 途徑投予或以 50 mg/kg 劑量的 PO 途徑投予後之式 1 的改變。根據本發明的一個實施例，血漿收集係在 8 小時期間進行。

圖 18 顯示根據本發明的一個實施例，於 IV (5 mg/kg)及 PO (50 mg/kg)投劑後小鼠糞便中的式 1 之量。

圖 19 顯示根據本發明的一個實施例，在經紫杉醇誘發之神經性疼痛中的式 1 活性。

圖 20 繪示根據本發明的一個實施例，在經 CCI 誘發之神經性疼痛中的式 1 活性。

圖 21 繪示根據本發明的一個實施例，在經 CCI 誘發之神經性疼痛後之冷痛(cold allodynia)的式 1 活性。

圖 22 繪示根據本發明的一個實施例，在小鼠中經紫杉醇誘發之神經性疼痛中的式 1 活性（口服投劑）。

圖 23 繪示根據本發明的一個實施例，在大鼠中經紫杉醇誘發之神經性疼痛中的式 1 活性（使用口服途徑投予）。

圖 24 繪示式 1 之治療對於在紫杉醇投劑後的體重減少之效果。

圖 25 繪示根據本發明的一個實施例，在大鼠 CCI 模型中的式 1 效果。連續式 1 投劑使得化合物活性增加。

【實施方式】

【0027】 本發明之實施例在以下詳細地論述。在說明此等實施例中，為了清楚起見，採用特定用語。不過，本發明不意欲被限制於所選擇的特定用語。在相關技術領域中具有通常知識者將理解可不受限於特定實例而採用其他均等組件且開發其他方法。

某些定義

【0028】 用語「烷基(alkyl)」係指支鏈或非支鏈烴鏈，例如，在鏈中具有 1 至 12 個碳原子之烴鏈。在一些實施例中，烷基係 C_1-C_6 烷基。在一些實施例中，烷基係 C_1-C_4 烷基。烷基的實例包括甲基(Me)、乙基(Et)、正丙基、異丙基、丁基、異丁基、二級丁基、三級丁基(tBu)、戊基、異戊基、三級戊基、己基、異己基、及根據所屬技術領域中之通常知識及本文所提供之教示被認為與上述實例中之任一者均等之基團。

【0029】 用語「鹵烷基(haloalkyl)」係指在鏈中具有 1 至 12 個碳原子且至少一個氫被鹵素取代的直鏈或支鏈烷基。在一些實施例中，鹵烷基係 C_1-C_6 鹵烷基。在一些實施例中，鹵烷基係 C_1-C_4 鹵烷基。一例示性的取代基係氟基。本發明之較佳的經取代烷基包括三鹵化烷基，例如三氟甲基。鹵烷基包括且不限於 CF_3、CH_2F、-CHF_2、-CH_2Cl、-CH_2-CF_3、及類似物。

【0030】 「環烷基(cycloalkyl)」係指具有 3 至 7 個碳原子的單環、非芳族烴基。環烷基的實例包括例如環丙基、環丁基、環戊基、環已基、及類似物。

【0031】 用語「烷氧基(alkoxy)」包括具有末端氧之直鏈或支鏈烷基，該末端氧連接該烷基至分子的其餘部分。在一些實施例中，烷氧基係 C_1-C_6 烷氧基。在一些實施例中，烷氧基係 C_1-C_4 烷氧基。烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、丁氧基、三級丁氧基、戊氧基等等。

【0032】 用語「雜環(heterocycle)」表示可選地含有選自 O、S、及 N 之雜原子之單或二環烴環結構。雜環基環可在環中具有 2 至 10 個碳原子。

【0033】 用語「鹵素(halogen)」表示氯、氟、溴、或碘。用語「鹵基(halo)」表示氯基、氟基、溴基、或碘基。

【0034】 波浪線「$\sim$」表示連接到分子其餘部分的點。

【0035】 「苄基」與–CH_2-苯基可互換使用。

【0036】 用語「醫藥上可接受(pharmaceutically acceptable)」係指經美國聯邦或州政府主管機關或美國以外國家的對應機關核准或可核准者，或為列在美國藥典(U.S. Pharmacopoeia)或其他一般公認藥典中用於動物（特別是人類）中者。

【0037】 「醫藥上可接受之鹽」係指本發明之化合物的鹽，其為醫藥上可接受者並且具有母化合物所欲的藥理活性。具體而言，所述鹽類是無毒的，並可為無機或有機的酸加成鹽和鹼加成鹽。具體而

言，此等鹽包括：(1)酸加成鹽，其藉由無機酸來形成，該等無機酸諸如鹽酸、氫溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、及類似物；或以有機酸所形成，例如乙酸、丙酸、己酸、環戊基丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、蘋果酸、馬來酸、延胡索酸、酒石酸、檸檬酸、苯甲酸、3-(4-羥苯甲醯基)苯甲酸、肉桂酸、苦杏仁酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羥乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟腦磺酸、4-甲基雙環[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡萄庚酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、三級丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、麩胺酸、羥基萘甲酸、水楊酸、硬脂酸、黏康酸及其類似物；或(2)當母化合物中的酸性質子經金屬離子置換時所形成的鹽，例如鹼金屬離子、鹼土離子或鋁離子；或該酸性質子與有機鹼配位所形成的鹽，例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基葡糖胺及其類似物。僅用於舉例說明，鹽類可進一步包含鈉、鉀、鈣、鎂、銨、四烷基銨及其類似物；且當化合物含有鹼性官能性時，無毒的有機或無機酸的鹽，例如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、酒石酸鹽、甲磺酸鹽、乙酸鹽、馬來酸鹽、草酸鹽、及類似物。

【0038】 「醫藥上可接受的媒劑(pharmaceutically acceptable vehicle)」係指與本發明之化合物一起投予的稀釋劑、佐劑、賦形劑、或載劑。「醫藥上可接受的賦形劑(pharmaceutically acceptable excipient)」是指無毒、具生物可耐受性、及不然生物上適合用於投予至個體的物質，例如惰性物質，其被加入至藥用組成物中或者作為媒劑、載劑、或稀釋劑以幫助藥劑的投予並與其相容。賦形劑之實例包

括碳酸鈣、磷酸鈣、各種糖類及各種類型的澱粉、纖維素衍生物、明膠、植物油、及聚乙二醇。

【0039】 「個體」包含人。用語「人(human)」、「患者(patient)」和「個體(subject)」在本文中可互換使用。

【0040】 在一實施例中，「治療(treating 或 treatment)」任何疾病或病症係指改善該疾病或病症（即阻止或減少疾病或其至少一種臨床症狀的發展）。在另一實施例中，「治療(reating 或 treatment)」係指改善至少一種身體參數，可能是個體無法辨別之參數。在又另一實施例中，「治療(reating 或 treatment)」係指調節疾病或病症，不論該疾病或病症是身體上（例如可辨別症狀之穩定）、生理上（例如身體參數的穩定）、或兩者之疾病或病症。在又另一實施例中，「治療(treating 或 treatment)」係指延緩疾病或病症的發生。

【0041】 在根據本發明之治療方法中，向患有或經診斷有該疾病、病症、或病況之個體投予治療有效量的根據本發明之藥劑。「治療有效量(therapeutically effective amount)」係指一量或劑量，其足以在需要該指定疾病、病症、或病況的治療之患者身上一般性地得到所欲之治療或預防效益。

【0042】 本發明之化合物的有效量或劑量可藉由常規方法（例如模型實驗、劑量遞增研究、或臨床試驗），以及藉由考量常規因素（例如投予或藥物遞送的模型或途徑、化合物藥物動力學、疾病、病症、或病況的嚴重程度和病程、個體先前或進行中的療法、個體的健康狀況和對藥物的反應、以及主治醫師的判斷）來確認。劑量實例係介於

每天每公斤個體體重自約 0.001 至約 200 mg 化合物之範圍內，較佳地為約 0.05 至 100 mg/kg/天，或約 1 至 35 mg/kg/天；為單次劑量單位或分次劑量單位（例如 BID、TID、QID）。對於 70 公斤的人來說，合適劑量之例示範圍係自約 0.05 至約 7 g/天，或約 0.2 至約 2.5 g/天。

【0043】 「本發明的化合物(Compounds of the present invention)」和均等表述旨在涵蓋本文所述之式之化合物，當上下文允許時，該表述包括醫藥上可接受的鹽及溶劑合物，例如水合物。同樣地，當上下文允許時，提及中間體旨在涵蓋其鹽及溶劑合物，無論彼等是否經請求保護。

【0044】 如本文中所使用，用語「同位素變體」係指一種化合物，其在構成此化合物的一或多個原子上包含非天然比例的同位素。例如，化合物的「同位素變體」可以被放射性標記，也就是含有一或多種非放射性或放射性同位素，舉例而言，例如氘（^{2}H 或 D）、碳 13（^{13}C）、氮 15（^{15}N）、或類似物。可以理解的是，在發生此種同位素取代的化合物中，以下原子若存在時可能會發生改變，因此，舉例來說，任何氫可以是 $^{2}H/D$，任何碳可以是 ^{13}C，或任何氮可以是 ^{15}N，而且在本領域的技術範圍內可以測定這類原子的存在及位置。同樣地，本發明可包含具有放射性同位素的同位素變體之製備，例如在所得到的化合物可用於藥物及/或受質組織分布研究的情形中。本發明之放射性標記的化合物可使用於診斷方法中，例如單光子發射電腦斷層掃描(SPECT)。放射性同位素氚，即 ^{3}H，及碳-14，即 ^{14}C 由於其容易併入及偵測手段現成而係尤其有用的。此外，可製備經正子發射的同

位素（例如 ^{11}C、^{18}F、^{15}O 及 ^{13}N）取代的化合物，其並可用於正子斷層掃描(PET)研究，以檢查受質受體的佔有情形。

【0045】 本發明之化合物的所有同位素變體，無論其是否具有放射性，均包含在本發明之範疇內。在一個態樣中，本文提供所描述化合物之氘化或氚化類似物。

【0046】 亦應當理解，具有相同分子式但其原子鍵結的本質或順序或其原子在空間中的排列有所不同的化合物被稱為「異構物(isomer)」。它們的原子在空間中排列不同之異構物稱為「立體異構物(stereoisomer)」。

【0047】 彼此非為鏡像的立體異構物稱為「非鏡像異構物(diastereomer)」，而彼此為不可重疊鏡像之立體異構物稱為「鏡像異構物(enantiomer)」。當化合物具有不對稱中心時，例如該中心係鍵結到四個不同基團，其可能有一對鏡像異構物。鏡像異構物可藉由其不對稱中心的絕對組態來表徵，其係由 Cahn 及 Prelog 的 R 及 S 順序法則來描述，或是由分子旋轉偏振光平面的方式來指定為右旋或左旋（即分別為(+)或(-)異構物）。掌性化合物可存在為個別的鏡像異構物或為彼等之混合物。含有相同比例之鏡像異構物的混合物稱為「外消旋混合物(racemic mixture)」。

【0048】 「互變異構物(Tautomer)」係指具有可互相轉變之特定化合物結構形式的化合物，其差異在於氫原子及電子的轉位。因此，兩個結構可透過 π 電子及原子（通常為 H）的移動而處於平衡狀態。例如，烯醇及酮係互變異構物，因為彼等可藉由酸或鹼之處理而快速

地互相轉換。互變異構現象的另一實例係苯基硝基甲烷的酸及硝基形式，同樣藉由酸或鹼之處理形成。

【0049】 互變異構形式可能與達成所欲化合物的最佳化學反應性與生物活性有關。

【0050】 本發明之化合物也可存在為「旋轉異構體(rotamer)」，亦即構形異構物，其係於導致不同構形的旋轉受到阻礙時出現，且產生一需要克服才能從一種構形異構物轉換到另一種構形異構物的旋轉能量障壁。

【0051】 本發明之化合物可具有一或多個不對稱中心；因此，此等化合物可以個別(R)-或(S)-立體異構物形式或以其混合物形式來產生。

【0052】 除非另有說明，本說明書及申請專利範圍中對特定化合物之描述或命名係意欲包括個別的鏡像異構物、及彼等之外消旋混合物或其他混合物。用於判定立體化學及分離立體異構物的方法在本技術領域中為習知。

【0053】 如本文使用，用語「局部遞送(localized delivery)」表示將醫藥或治療劑遞送至身體之特定、有限區域。

【0054】 如本文使用，用語「全身遞送(systemic delivery)」表示將醫藥或治療劑遞送至整個身體，例如，經由投予至循環系統。

【0055】 如本文使用，用語「質譜法(mass spectrometry, MS)」表示將化合物離子化以產生帶電分子或分子片段並且量測其等之豐度

隨著質量與電荷(m/z)比率而變化（質譜）的分析技術。根據質譜，可得到關於化合物結構之結論。

【0056】 如本文使用，用語「液相層析－質譜法(liquid chromatography – mass spectrometry, LCMS)」表示將液相層析之物理分離能力與質譜法之分析能力結合的分析技術。在液相層析步驟中，將樣本引入充填有固定相之管柱中，而將樣本之化合物藉由其等在管柱中之滯留時間(Rt)來分離。然後，將與滯留時間間隔相關聯之一或多種化合物引導至質譜儀，以獲得允許得到關於此化合物或此等化合物之結構之結論的質譜。

【0057】 如本文使用，用語「薄層層析(thin-layer chromatography, TLC)」表示將樣本中之化合物藉由其等塗佈有固定相材料之板向上吸之不同速率來分離之分析技術。

【0058】 如本文使用，用語「核磁共振波譜法(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)」表示量測一組原子核對於射頻脈衝之共振回應之強度以允許獲得關於原子核之電子環境之資訊的分析技術。由此，可得出關於原子核駐留之化合物之化學結構的結論。使用氫原子核（質子）之核磁共振波譜技術被稱為質子核磁共振波譜法(^{1H}NMR)。

【0059】 用語「酯(ester)」在本文中如有機化學領域習知者般使用。例如，用語「酯」可指示具有鍵結氧及烷基之羰基或具有鍵結羰基及烷基之氧。

【0060】 如本文中所使用，用語「代謝性症候群(metabolic syndrome)」指示動物或人的能量利用及儲存之醫學性或生物性病症，並可由下列來表微：腹部肥胖、升高的血壓、升高的空腹血糖、高血清三酸甘油酯類、及/或低的高密度膽固醇量。

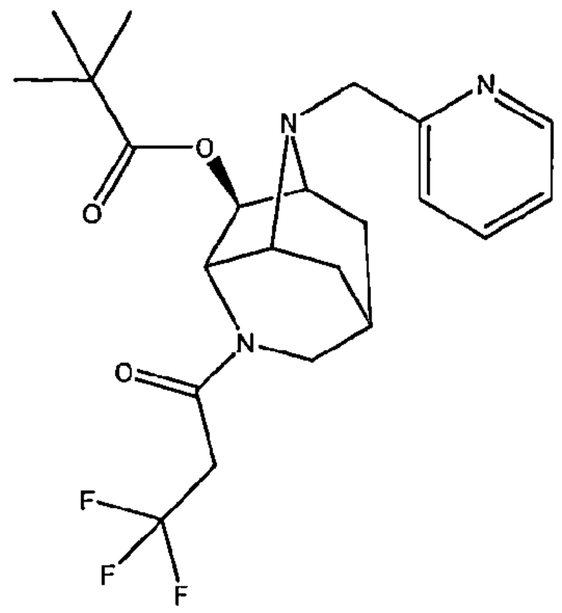
【0061】 如本文中所使用，用語「聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction)」指示一種用於產生許多特定 DNA 序列複製片段之生醫技術。

【0062】 如本文使用，用語「濕磨(triturate)」表示純化材料之方法，其中粗材料用溶劑洗滌。溶劑可選擇，以使得所欲產物不溶解並且雜質可溶解，在此情況下，經純化產物以固體形式保留並且雜質與溶劑一起移除。相反地，溶劑可選擇，以使得所欲產物可溶解並且雜質不溶解，在此情況下，純化產物係呈溶液並且雜質以固體形式移除。然後，溶劑可例如經由蒸發來移除以獲得經純化產物。

【0063】 如本文使用，用語「Boc-保護(Boc-protection)」表示使用作為保護基之三級丁氧羰基(Boc)之化合物的官能化。此允許化合物總體上能以不然將非所欲地攻擊未被保護基團之試劑處理。然後，被保護基團可去保護以產出所需原始基團。

例示性化合物

【0064】 本發明提供具有式 1 結構之化合物結構之分子，該式 1：



(2S,3S,6R,7aR)-1-(吡啶-2-基甲基)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基三甲基乙酸酯，及其立體異構物。此化合物可藉由實例 1 提及之方案所描述之反應順序來製備。

醫藥組成物及投予

【0065】 本發明化合物係有用於作為藥劑並且可併入醫藥組成物中，該等醫藥組成物包含治療有效量之如本文定義之本發明化合物，及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑。

【0066】 本發明之化合物亦可使用來製造有用於作為藥劑之衍生物化合物，並且該等衍生物化合物可同樣地併入用治療有效量之此衍生物化合物及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑來製備之醫藥組成物中。

【0067】 本發明之化合物，及其之此等衍生物，可有用於治療人及動物之病況、疾病、及病症。此等化合物可配製成醫藥組成物並且以適應於選定投予途徑之各種形式投予需要治療之個體，例如哺乳動物，諸如人患者。例如本發明之化合物可被配製成用於經口、經鼻、腹膜內、或非經腸、藉由靜脈內、肌肉內、局部、或皮下途徑、或藉由注射至組織中來投予。

【0068】 因此，本發明之化合物可全身投予，例如，與醫藥上可接受之媒劑諸如惰性稀釋劑或可吸收之食用載劑組合來經口投予，或藉由吸入或吹入來投予。其等可圍封於硬或軟殼明膠膠囊中、可壓縮成錠劑、或可直接併入患者膳食之食物中。對於經口治療投予，化合物可與一或多種賦形劑組合並且以可攝取錠劑、口腔錠劑、喉錠、膠囊、酏劑、懸浮液、糖漿、糯米紙囊劑、及類似物之形式來使用。化合物可與惰性粉狀載劑組合並且被個體吸入或吹入。此等組成物及製劑應含有至少 0.1%本發明之化合物。當然，存在於此等組成物及製劑中之本發明化合物之百分比可變化並且可方便地在給定單位劑型之約 2 重量%至約 60 重量%之間。此等治療上有用組成物中之化合物之量使得將獲得有效劑量位準。

【0069】 錠劑、喉錠、丸劑、膠囊、及類似物亦可含有下列者：黏合劑諸如黃蓍樹膠、阿拉伯樹膠、玉米澱粉或明膠；賦形劑諸如磷酸氫鈣；崩解劑諸如玉米澱粉、馬鈴薯澱粉、褐藻酸、及類似物；潤滑劑諸如硬脂酸鎂；及甜味劑諸如蔗糖、果糖、乳糖、或阿斯巴甜、或可添加調味劑諸如薄荷、冬青油、或櫻桃調味劑。當單位劑型係膠囊時，其除了含有上述類型之材料以外，還可含有液體載劑，諸如植物油或聚乙二醇。各種其他材料可以塗層形式存在或另外用於修改固體單位劑型之外觀。例如，錠劑、丸劑、或膠囊可用明膠、蠟、蟲膠、或糖、及類似物塗佈。糖漿或酏劑可含有活性化合物、作為甜味劑之蔗糖或果糖、作為防腐劑之對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯、染料、及調味劑諸如櫻桃或甜橙香精。當然，用於製備任何單位

劑型之任何材料應為醫藥上可接受的並且在所使用量下實質上無毒。另外，化合物可併入持續釋放製劑及裝置中。例如，化合物可併入延時釋放膠囊、延時釋放錠劑、延時釋放丸劑、及延時釋放聚合物或奈米粒子中。

【0070】 化合物亦可藉由輸注或注射來靜脈內或腹膜內投予。化合物之溶液可在水中製備，可選地與無毒界面活性劑混合。分散液亦可在甘油、液體聚乙二醇、三乙酸甘油酯、及其混合物中；以及在油中製備。在儲存及使用之固有條件下，此等製劑可含有防腐劑以防止微生物生長。

【0071】 適合於注射或輸注之醫藥劑型可包括無菌水溶液或分散液或包含化合物之無菌粉劑，其適應於臨時製備無菌可注射或可輸注溶液或分散液，且可選地囊封於脂質體中。在所有情況下，最終劑型應為無菌、流體，並且在製造及儲存條件下穩定。液體載劑或媒劑可為溶劑或液體分散媒質，其包含例如水、乙醇、多元醇（例如甘油、丙二醇、液體聚乙二醇、及類似物）、植物油、無毒甘油酯、及其合適混合物。適當流動性可例如藉由形成脂質體、在分散液的情況下藉由維持所需粒徑、或藉由使用界面活性劑來維持。預防微生物之作用可藉由各種抗細菌及抗真菌劑，例如，對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞、及類似物來實現。在許多情況下，包括等滲劑例如糖、緩衝劑、或氯化鈉係較佳的。可注射組成物之延長吸收可藉由在組成物中使用延遲吸收之試劑，例如，單硬脂酸鋁及明膠來實現。

【0072】 無菌的可注射溶液藉由將所需量之化合物與根據需要的以上列舉之各種其他成分一起併入合適溶劑中，較佳隨後過濾滅菌來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉劑的情況下，較佳製備方法係真空乾燥及冷凍乾燥技術，產生活性成分加上存在於先前無菌過濾溶液之任何額外所需成分的粉劑。

【0073】 對於局部投予，化合物可以純的形式來施用。然而，可能所欲者為將其等作為與可為固體或液體的皮膚學上可接受載劑組合的組成物或配方形式投予皮膚。

【0074】 有用之固體載劑包括細分固體諸如滑石粉、黏土、微晶纖維素、二氧化矽、氧化鋁、及類似物。其他固體載劑包括無毒聚合奈米粒子或微粒子。有用液體載劑包括水、醇、或二醇、或水/醇/二醇摻合物，於其中化合物可以可選地藉助於無毒界面活性劑以有效位準來溶解或分散。可添加佐劑諸如香料及額外抗微生物劑以優化對於給定用途之性質。所得液體組成物可從用於浸漬繃帶及其他敷料之吸收襯墊施用，或使用泵類型或氣溶膠噴霧器來噴霧至患病區域。

【0075】 增稠劑諸如合成聚合物、脂肪酸、脂肪酸鹽及酯、脂肪醇、修飾纖維素、或修飾無機物材料亦可與液體載劑一起使用以形成可塗佈膏、凝膠、軟膏、肥皂、及類似物，用於直接施用至使用者之皮膚。

【0076】 可用於將化合物遞送至皮膚之有用皮膚組成物之實例係技術領域中已知的；例如，參見 Jacquet 等人（美國專利案第 4,608,392 號）、Geria（美國專利案第 4,992,478 號）、Smith 等人（美

國專利案第 4,559,157 號）、及 Wortzman（(美國專利案第 4,820,508 號），其全部以引用形式併入本文。

【0077】 此等配方中之本發明之治療性化合物之濃度可取決於配方之性質及意欲投予途徑而廣泛地變化。例如，液體組成物諸如乳液中之化合物之濃度可較佳為自約 0.1 至 25 重量%，或更佳自約 0.5 至 10 重量%。半固體或固體組成物諸如凝膠或粉劑中之濃度可較佳為約 0.1 至 5 重量%，或更佳約 0.5 至 2.5 重量%。

【0078】 本發明之該等劑之有效劑量及投予途徑係習知的。劑之精確量（有效劑量）會在不同個體間有變化，此係取決於例如個體之物種、年齡、體重、及一般或臨床病況、任何所治療病症之嚴重程度或機制、所使用特定劑或媒劑、投予之方法及排程、及類似物。治療有效劑量可藉由所屬技術領域中具有通常知識者已知之習知程序依經驗判定。參見例如 The Pharmacological Basis of Therapeutics, Goodman and Gilman, eds., Macmillan Publishing Co., New York。例如，有效劑量可最初在細胞培養物檢定中或在合適動物模型中來估計。動物模型亦可用於判定合適濃度範圍及投予途徑。然後，此資訊可用於判定投予人之有用劑量及途徑。用於將小鼠及其他動物中之有效劑量外推至人的方法在此技術領域中係已知的；例如，參見美國專利第 4,938,949 號，其以引用形式併入本文。治療劑量亦可從可相比擬治療劑之劑量用類推的方法來選擇。

【0079】 特定投予模式及劑量方案由主治臨床醫師，考慮到病例之詳情（例如，個體、疾病、所涉及疾病狀態、及是否治療係預防

性）來選擇。治療可涉及在數天至數月，或甚至數年週期內的化合物之每天或多天劑量。

【0080】 然而，通常，合適劑量會在自約 0.001 至約 100 mg/kg 體重/天，較佳自約 0.01 至約 100 mg/kg 體重/天，更佳自約 0.1 至約 50 mg/kg 體重/天範圍內，或甚至更佳在自約 1 至約 10 mg/kg 體重/天範圍內。例如，合適劑量可為約 1 mg/kg、10 mg/kg、或 50 mg/kg 體重/天。

【0081】 化合物方便地以單位劑型來投予；例如，每單位劑型含有約 0.05 至約 10000 mg，約 0.5 至約 10000 mg，約 5 至約 1000 mg，或約 50 至約 500 mg 活性成分。

【0082】 可投予化合物以達成峰血漿濃度，例如，自約 0.25 至約 200 μM、約 0.5 至約 75 μM、約 1 至約 50 μM、約 2 至約 30 μM、或約 5 至約 25 μM。例示性所欲血漿濃度包括至少 0.25、0.5、1、5、10、25、50、75、100 或 200 μM。例如，血漿位準可為自約 1 至約 100 微莫耳濃度或自約 10 至約 25 微莫耳濃度。此可例如藉由靜脈內注射 0.05 至 5%化合物溶液來達成，可選地在鹽水中，或以含有約 1 至約 100 mg 化合物之大丸劑形式來經口投予。所需血液位準可藉由連續或間歇輸注來保持。

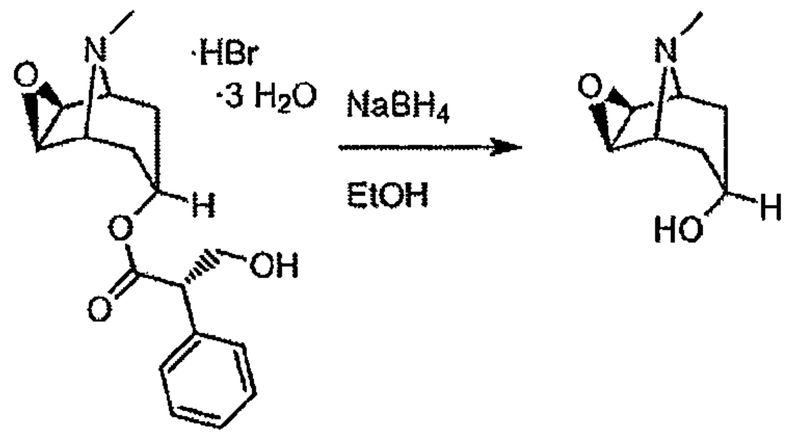
【0083】 化合物可方便地以單一劑量或以在合適間隔下投予之劃分劑量來呈現，例如，以每天一個劑量或以每天兩個、三個、四個或更多個亞劑量。亞劑量本身可進一步劃分成例如多次不連續的寬鬆間隔開投予；諸如從吹入器的多次吸入。

【0084】 所有文件、參考文獻、及資訊，包括但不限於在本申請案中提到、引用、或涉及之雜誌文章、專利申請案、及專利之全文以引用形式併入本文，其引用程度如同每一者個別地併入一般。

實例 1：合成式 I 化合物

【0085】 式 1 化合物從式 19 化合物（莨菪鹼[51-34-3]）((2S)-(1R,2R,4S,5S)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-基-3-羥基-2-苯基丙酸酯氫溴酸鹽三水合物）藉由以下方案 1 至 18 描述之步驟來合成。

【0086】 第一步驟在方案 1 中繪示。



式 19　　式 18

方案 1

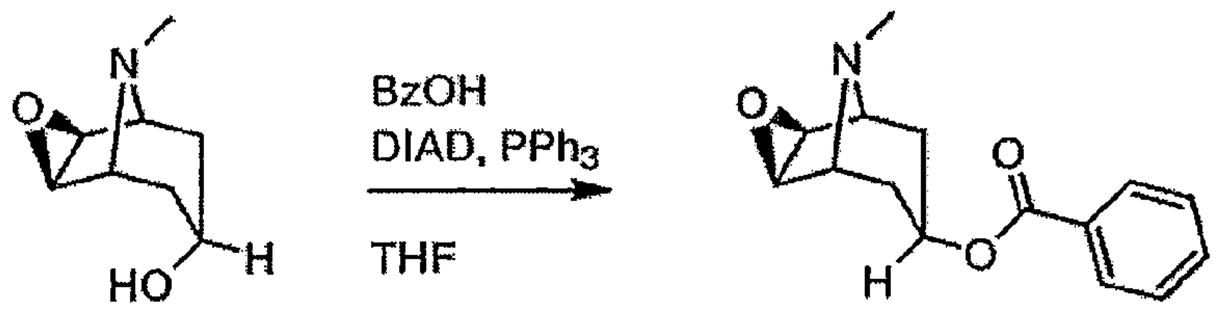
【0087】 於冰浴中，在 10 升四頸圓底燒瓶裡面，硼氫化鈉(172 g, 4558 mmol)以約 2 小時逐份添加至式 19 化合物(333 g, 760 mmol)於 3 升無水乙醇中之機械攪拌懸浮液。在此時間期間，發生了氣體形成，且攪拌懸浮液，同時加溫至環境溫度隔夜。在加熱時，於大約 10 ℃發生突然額外氣體形成及起泡。

【0088】 然後，將乳狀懸浮液濃縮至約其原始體積的一半（即約3 L至1.5 L），並且觀察到額外沉澱物，從而產出此批料。接著用2 L工業級乙醚(Et_2O)來稀釋異丙醇(IPA) (5318 mmol, 1.064 L)中之 5 M HCl。然後，將所獲得鹽酸(HCl)溶液逐滴添加至冰冷卻批料，同時攪拌。允許白色懸浮液機械攪拌隔夜以允許硼酸鹽之完全水解。

【0089】 將反應混合物過濾並且所得固體用 500 mL 份之 Et_2O 沖洗兩次。將乾燥固體（其含有一些 Et_2O）溶解於最小量 10%碳酸鉀(K_2CO_3)水溶液(~1.5 L)中直到恰好獲得透明溶液為止。將 200 mL 之鹽水及~50 g 固體 NaCl 添加至溶液。然後，水相充分地用氯仿/甲醇(MeOH)/[MeOH 中之 7N NH_3](85:14:1)萃取。此程序各用 1.0 L 份此溶劑混合物執行 5 次。

【0090】 將組合之有機萃取物乾燥（硫酸鈉(Na_2SO_4)）、過濾、並且溶劑在減壓下移除，而給出 87%產率之 102.2 g (659 mmol)呈輕微棕褐色油之式 18 化合物（(1R,2R,4S,5S)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-醇）。^{1H}NMR ($CDCl_3$)（圖 1）顯示與式 18 化合物結構一致，具有少量雜質。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 4.03-4.00 (m, 1H), 3.67 (s, 2H), 3.20-3.18 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.14-2.08 (m, 2H), 1.69 – 1.37 (m, 3H)。

【0091】 下一個步驟如方案 2 所示進行。



式 18　　式 17

方案 2

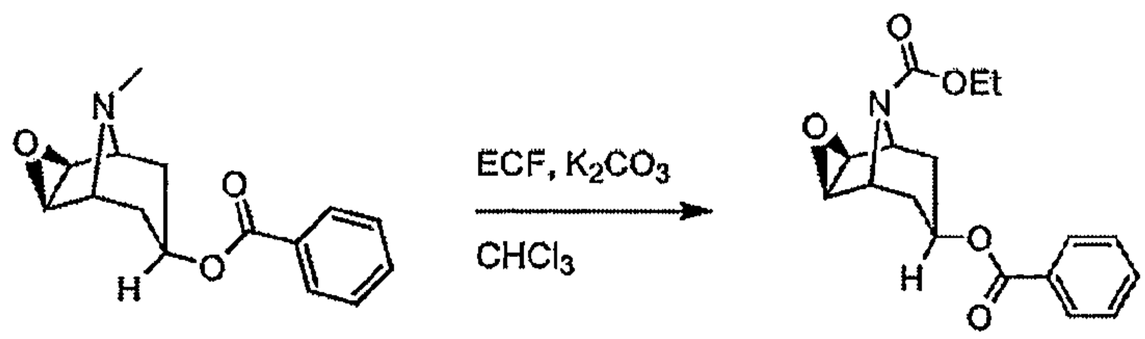
【0092】 以 4 小時時間，向式 18 化合物(102.2 g, 659 mmol)、苯甲酸(BzOH) (97 g, 790 mmol)及三苯基膦(PPh_3) (207 g, 790 mmol)於 1000 mL 無水四氫呋喃(THF)中之溶液逐滴添加二異丙基偶氮二羧酸酯(DIAD) (160 g, 790 mmol, 154 mL)於 100 mL 無水 THF 中之溶液。在添加期間，使用丙酮/乾冰將溶液保持在-35 與-25℃之間。然後將透明、無色溶液從冰浴中移除並且在室溫下攪拌隔夜。

【0093】 取得並且分析樣本，並且該分析顯示反應完成。將反應混合物濃縮、溶解於 1 L 乙酸乙酯(EtOAc)中、用 1 L 飽和碳酸氫鈉($NaHCO_3$)萃取、並且隨後用 2M HCl 水溶液(1×1 L, 2×0.5 L)萃取。組合之酸性水性萃份用 1 L 之 EtOAc 再洗滌一次。將大約 400 g 碳酸鉀(K_2CO_3)逐份添加至酸性水層，同時攪拌，直到不再觀察到氣體形成為止。所得溶液之 pH 呈輕微鹼性並且輕微混濁及黃色。

【0094】 然後，水相用二氯甲烷(DCM)/MeOH 9:1（3x，各 1 L）溶液萃取並且將組合之有機萃份用硫酸鈉(Na_2SO_4)乾燥、過濾、並且濃縮以提供 118.3 g (447 mmol)式 17 化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-基苯甲酸酯），接著其藉由

MS（圖 2）證實以 67.9%產率具有 98%純度。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 8.07 – 7.93 (m, 2H), 7.59 – 7.48 (m, 1H), 7.44 – 7.40 (m, 2H), 5.39 – 5.30 (m, 1H), 3.63 (s, 2H), 3.42 – 3.25 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.10 – 2.04 (m, 2H), 1.92 – 1.86 (m, 2H)。

【0095】 下一個步驟如方案 3 所示進行。



式 17　　式 16

方案 3

【0096】 在氮氣氛下（並非氣流），向式 17 化合物(201.9 g, 779 mmol)於氯仿(350 mL)中之溶液，添加 K_2CO_3 (452 g, 3270 mmol)及氯甲酸乙酯(279 g, 2569 mmol, 247 mL)以形成淡黃色懸浮液，然後其在回流下攪拌隔夜。

【0097】 接著，取得並且分析樣本而顯示反應達到 74%轉化成產物，式 16 化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-(苯甲醯基氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）。混合物在回流溫度下進一步攪拌又 24 小時。

【0098】 然後取得並分析另一個樣本，其顯示反應達到 75%轉化成產物。為了驅動反應朝向完成，將額外 K_2CO_3 (53.8 g, 389 mmol)及

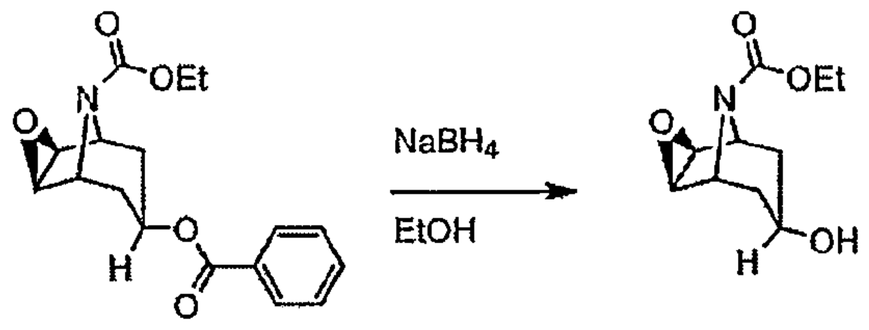
氯甲酸乙酯(85 g, 779 mmol, 74.8 mL)添加至反應溶液並且混合物在回流溫度下攪拌隔夜。

【0099】 攪拌並回流隔夜之後，取得另一個樣本，其經分析而顯示反應達到 81%轉化成式 16 化合物。

【0100】 然後，反應混合物用 500 mL 之 DCM 稀釋並且有機層用 750 mL 之半飽和 $NaHCO_3$ 水溶液、750 mL 之 0.4 MHCl 水溶液、及 750 mL 鹽水洗滌。隨後，混合物以 Na_2SO_4 乾燥，然後過濾並在減壓下濃縮，然後提供黃色油。添加 300 mL 庚烷並且混合物劇烈地攪拌隔夜。

【0101】 形成白色懸浮液，其含有大的白色團塊，將其用抹刀壓碎。將懸浮液經玻璃濾器過濾，用大約 250 mL 庚烷及大約 200 mL 戊烷沖洗。接著，懸浮液使用真空烘箱乾燥 3 小時，產出呈白色固體之式 16 化合物（219.6 g, 692 mmol，89%產率）。產物之 LCMS 顯示大於 95%之產率，並且質量及結構與所欲產物一致，如 MS（圖 3B）及 ^{1H}NMR（圖 3A）示出。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.61 – 7.53 (m, 1H), 7.48 – 7.42 (m, 2H), 5.48 – 5.39 (m, 1H), 4.58 (m, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.16 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.56 – 3.53 (m, 2H), 2.34 – 2.21 (m, 2H), 1.98 – 1.86 (m, 2H), 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0102】 下一個步驟如方案 4 所示進行。



式 16　　式 15

方案 4

【0103】 在室溫下，在 6 L 三頸燒瓶中，將硼氫化鈉(157 g, 4152 mmol)添加至式 16 化合物(219.6 g, 692 mmol)於 1.5 L 無水乙醇中之懸浮液。反應係放熱的，並且於大約 4 小時時間具有大於 60℃之內部溫度，在反應期間觀察到極端氣體/泡沫形成。懸浮液在 50℃下磁性攪拌隔夜。

【0104】 然後，取得樣本並且藉由 TLC 分析而顯示反應已經完成。所得產物係白色固體，在夜間使磁力攪拌器停止。混合物在減壓下濃縮並且白色固體殘餘物係在 1 L 氯仿與 3.5 L 半飽和水性 $NaHCO_3$ 溶液之間分配。隨後，將層分離並且水層用額外氯仿（2x，各 1 L）萃取。組合之有機層用 1 L 鹽水洗滌、以 Na_2SO_4 乾燥、並且過濾，並在減壓下濃縮以提供大約 220 g 呈白色固體之產物，其在 0.6 L 庚烷中使用磁力攪拌器攪拌隔夜。

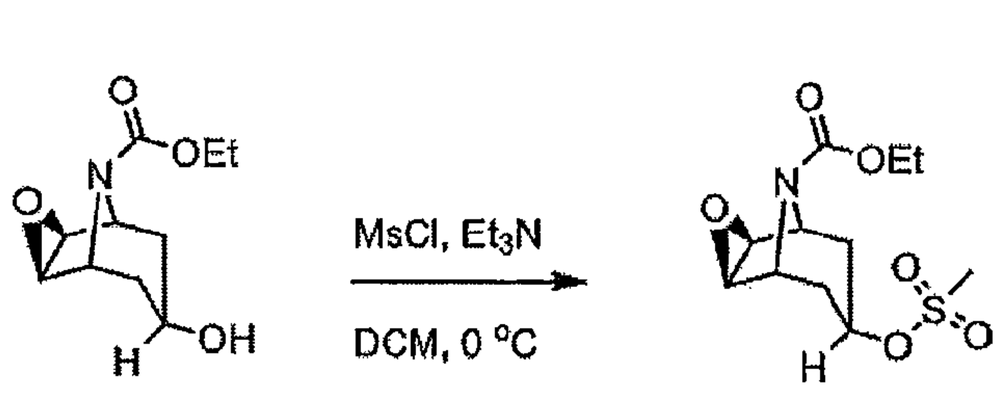
【0105】 然後將混合物過濾掉，產物形成小球，將其壓碎並且將 500 mL 庚烷添加至其中。混合物用磁力攪拌器劇烈地攪拌隔夜。

【0106】 將混合物攪拌隔夜之後，灰白色懸浮液仍然含有小球，其然後用抹刀壓碎。將懸浮液過濾並且殘餘物用大約 300 mL 庚烷沖洗並且藉由真空乾燥，產出大約 148 g 產物。

【0107】 取得樣本並且藉由 ^{1H}NMR 分析而顯示結構與式 15 化合物（1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-羥基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）一致，（圖 4）。

【0108】 接著，將殘餘物在大約 300 mL 之 Et_2O 中攪拌 1 小時。將白色懸浮液過濾；並且殘餘物再次用大約 300 mL 之 Et_2O 沖洗，然後藉由真空乾燥（在 N_2 流下）以產生式 15 化合物（122 g, 572 mmol，82%產率）。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 4.50 (m, 1H), 4.41 (m, 1H), 4.23 – 4.09 (m, 3H), 3.42 – 3.39 (m, 2H), 2.15 – 2.08 (m, 2H), 1.73 – 1.62 (m, 2H), 1.44 (d, *J* = 5.9 Hz, 1H), 1.26 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0109】 下一個步驟如方案 5 所示進行。



式 15　　式 14

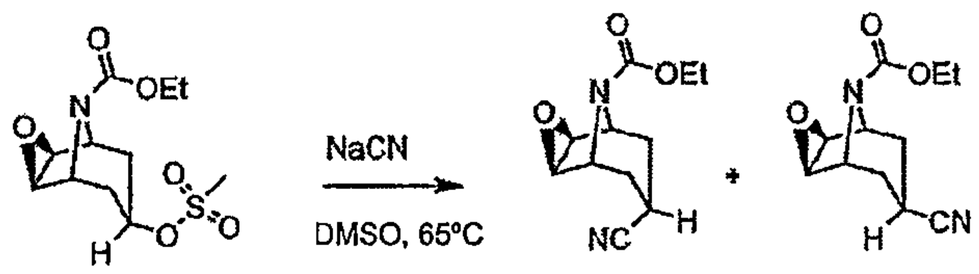
方案 5

【0110】 於 0℃下，將三乙基胺(22.78 g, 225 mmol, 31.4 mL)及甲磺醯基-Cl (23.64 g, 206 mmol, 16.08 mL)逐滴添加至式 15 化合物(40 g, 188 mmol)於 DCM (500 mL)中之溶液。一旦添加完成，將冰浴移除並且攪拌輕微乳狀懸浮液同時加溫至室溫。

【0111】 1小時之後，取得樣本並且藉由TLC分析，其顯示發生完全轉化。然後，反應混合物用 500 mL 水洗滌兩次。DCM 層看似乳狀並且以 Na_2SO_4 乾燥（其使層變得更清透），然後過濾並在減壓下濃縮以提供稠油。油用甲苯汽提兩次以提供 54.2 g 淺棕褐色固體，其含有 21 w%甲苯。

【0112】 固體在真空，50℃下進一步乾燥直到重量保持恆定於 43.2 g（148 mmol；78.9%產率）為止，產出式 14 化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基 7-((甲基磺醯基)氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）。取得樣本並且結構藉由 ^{1H}NMR 證實（圖5）。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 5.11 – 5.02 (m, 1H), 4.54 – 4.53 (m, 1H), 4.44 – 4.43 (m, 1H), 4.13 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.47 – 3.45 (m, 2H), 3.00 (s, 3H), 2.28 – 2.23 (m, 2H), 2.00 – 1.90 (m, 2H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0113】 下一個步驟如方案 6 所示進行。



式 14　　式 13　式 13.a

方案 6

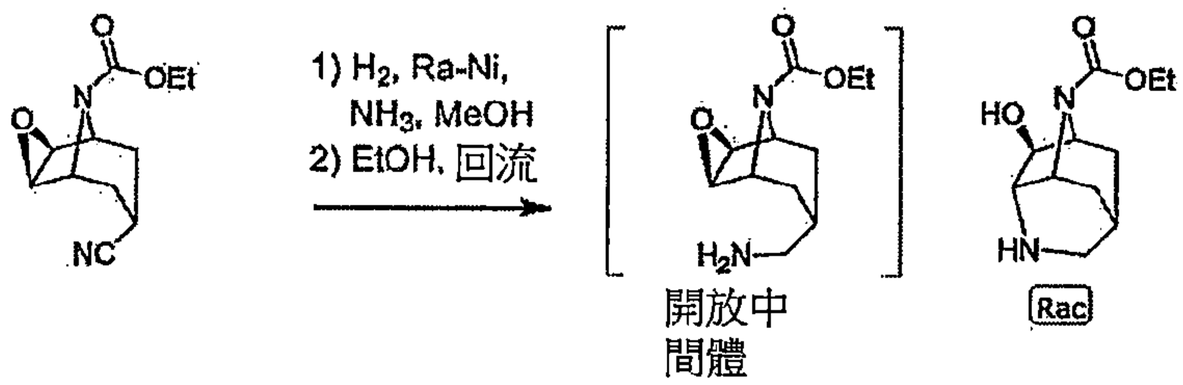
【0114】 將氰化鉀 (12.14 g, 186 mmol) 及 18-冠-6（1,4,7,10,13,16-六氧雜環十八烷）(0.493 g, 1.864 mmol)添加至式 14 化合物(19.89 g, 62.1 mmol, 91%)於 300 mL 乾燥二甲亞碸中之溶液以

形成淡黃色溶液，其在 65℃下攪拌兩天半、或大約 65 小時，以產出淺棕色溶液。

【0115】 取得樣本並且藉由 TLC（庚烷/DME1:1，需要鉬酸鹽染色）來分析，其顯示清潔轉化成所欲產物（未觀察到外向-差向異構物副產物）。然而，此時發現到反應未進行至完成，因為仍觀察到起始物質。攪拌持續總共 118 小時，然後允許棕色溶液冷卻至室溫，並且在分配於 2 L 之 EtOAc 與 2 L 之水之間之前，與額外批料組合。

【0116】 該等層分層並且有機層用 1 L 鹽水洗滌兩次、以 Na_2SO_4 乾燥、並且過濾，並在減壓下濃縮以提供粗製產物，式 13 化合物（(1R,2R,4S,5S,7s)-乙基 7-氰基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）。產物藉由重力管柱層析（750 g 氧化矽，庚烷/[5->50% EtOAc]）純化以提供 15.1 g 白色固體，或式 13 化合物。取得樣本並且藉由 ^{1H}NMR（圖 6）分析，其證明產物與式 13 結構一致，雖然產物確實含有 10 w%外向-副產物（其對於後續反應係不成問題的）及 7.5 w%庚烷。在對於溶劑及副產物含量進行校正之後，所有實驗之組合產率係 7.55 g，或 45%產率。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 4.53 – 4.52 (m, 1H), 4.43 – 4.41 (m, 1H), 4.12 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.70 – 3.68 (m, 2H), 2.93 – 2.89 (m, 1H), 2.22 – 2.12 (m, 2H), 2.04 – 1.98 (m, 2H), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0117】 下一個步驟如方案 7 所示進行。



式 13　　式 12.a　　式 12

方案 7

【0118】 將雷氏鎳於水中之 50%漿液添加至式 13 化合物(18.20 g, 82 mmol)於 350 mL 之 MeOH/200 mL 之氨（於 MeOH 中，7N）中之溶液。溶液保持在氮氣氛下並且在劇烈地攪拌下添加雷氏鎳漿液直到獲得暗黑色懸浮液為止。

【0119】 將反應容器排空並且用 H_2 氣球再填充，重複兩次，然後在 45℃下在由氣球產生之 H_2 氣氛中攪拌。3 小時之後，取得樣本並且藉由 TLC 使用庚烷/二甲氧基乙烷(DME) 1:1 來分析，其證明反應完成。將反應混合物在用 MeOH 預沖洗之短矽藻土墊上過濾。殘餘物亦用額外 MeOH 沖洗。

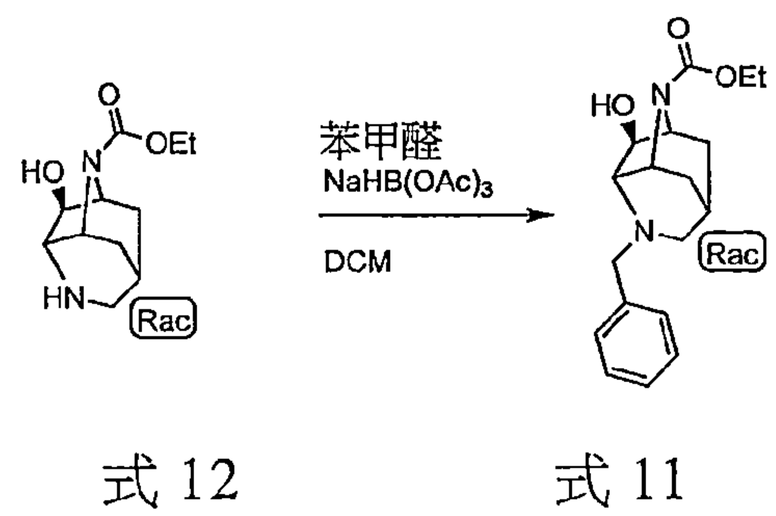
【0120】 接著，濾液在減壓下濃縮以給出淡黃色油。此粗製產物主要由式 12.a 化合物(1R,2R,4S,5S,7s)-乙基 7-(胺基甲基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯之開放胺及在較小程度上（所欲）環化胺式 12 化合物（rac-(2R,3S,6S,7aS)-乙基 3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）所組成。

【0121】 為了驅動主要內向-異構物之環化完成，將中間體溶解於 500 mL 之無水乙醇中，其產生淡黃色溶液，然後將其攪拌並且回流隔夜。

【0122】 取得樣本，在減壓下濃縮，溶解於 $CDCl_3$ 中，並且藉由 ^{1H}NMR（圖 7）分析，其顯示中間且開放內向-異構物已經環化。進一步顯示大約 9%之產物係開放外向-胺，並且一些溶劑保留。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 4.46 – 4.01 (m, 5H), 3.50 – 3.44 (m, 1H), 3.16 – 3.11 (m, 1H), 3.96 – 2.93 (m, 1H), 2.10 – 1.66 (m, 5H), 1.47 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 1.26 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0123】 主要批料之黃色溶液係在減壓下濃縮並且殘餘物重新溶解於 500 mL 之 $CHCl_3$ 中並且以 Na_2SO_4 乾燥。將溶液過濾並且濃縮以給出 21.7 g 之呈黃色稠油之式 12 化合物，其含有溶劑及用於下一個步驟中之開放外向-胺。

【0124】 下一個步驟如方案 8 所示進行。



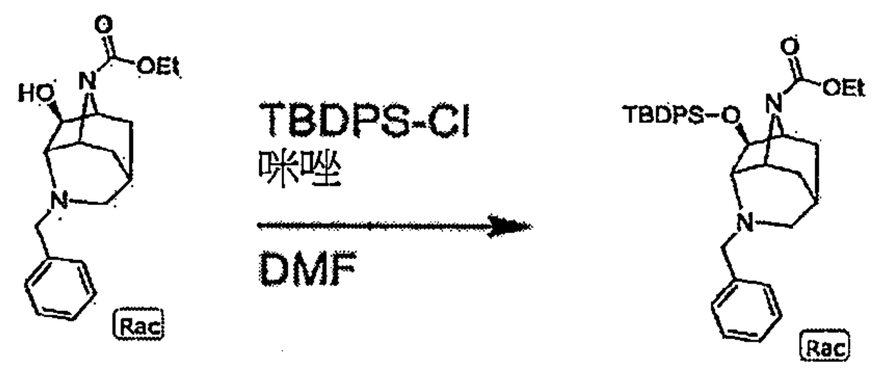
式 12　　式 11

方案 8

【0125】 將苯甲醛(22.74 g, 214 mmol, 21.72 mL)添加至式 12 化合物(37.3 g, 165 mmol)於 1000 mL 二氯甲烷中之溶液。15 分鐘之後，添加 STAB (55.9 g, 264 mmol)。然後懸浮液在室溫下攪拌隔夜。

【0126】 反應混合物用 1 L 水及 1 L $NaHCO_3$ 洗滌。有機層用 Na_2SO4_2 乾燥並且濃縮至乾以提供 55 g 之反應後產物，其隨後藉由重力管柱層析（600 g, Hep/5 至 60% ETOAc）純化以得到：2.2 g 之外向-Bn2N-加成物；及 35.3 g 之式 11 化合物（rac-(2R,3S,6S,7aS)-乙基 3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯），如藉由 ^{1H}NMR（圖 8B）及 MS（圖 8A）分析並證實。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 7.35 – 7.30 (m, 4H), 7.26 – 7.22 (m, 2H), 4.41 – 4.02 (m, 5H), 3.83 – 3.78 (m, 1H), 3.66 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 3.30 – 3.26 (m, 1H), 3.11 – 3.06 (m, 1H), 2.35 – 2.31 (m, 1H), 2.07 – 1.88 (m, 3H), 1.77 – 1.65 (m, 2H), 1.44 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H)。

【0127】 下一個步驟如方案 9 所示進行。



式 11　　式 10

方案 9

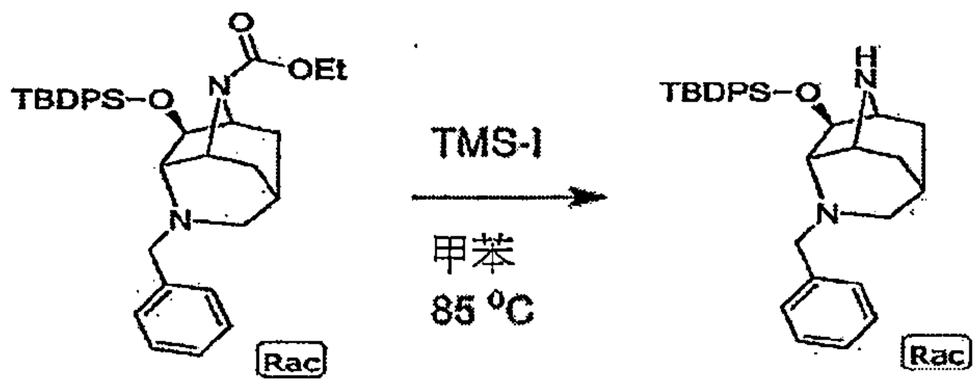
【0128】 將咪唑(15.19 g, 223 mmol)及三級丁基二苯基氯矽烷(30.7 g, 112 mmol, 28.7 mL)添加至式 11 化合物(35.3 g, 112 mmol)於 100 mL 無水 N,N-二甲基甲醯胺中之溶液以形成淡黃色溶液，其在室溫下攪拌隔夜。

【0129】 攪拌完成之後，取得樣本並且藉由 LCMS 分析，其顯示反應完成。

【0130】 然後，溶液在減壓下濃縮以產生油狀殘餘物，其用 750 mL 之 DCM 稀釋並且用 750 mL 之 1:1 飽和 $NaHCO_3$ 水溶液及水來洗滌。隨後溶液用 750 mL 鹽水洗滌。有機層以 Na_2SO_4 乾燥，過濾，並且濃縮以提供大約 65 g 反應後產物，如藉由 TLC 證實。

【0131】 反應後產物藉由重力管柱層析（大約近似 600 g, Hep/5 至 15% EtOAc）來純化，其提供 59.5 g，或 90%產率之呈很稠之無色油之式 10 化合物（rac-(2R,3R,6S,7aS)-乙基 4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）。取得樣本並且藉由 ^{1H}NMR（圖 9B）及 LCMS（圖 9A）分析，其顯示產物與式 10 結構一致並且含有 6 w/w%庚烷。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 7.72 – 7.66 (m, 4H), 7.47 – 7.36 (m, 6H), 7.26 – 7.16 (m, 3H), 7.12 – 7.09 (m, 2H), 4.62 – 4.48 (m, 1H), 4.26 (s, 1H), 4.22 – 4.03 (m, 3H), 3.40 – 3.29 (m, 2H), 2.89 – 2.78 (m, 2H), 1.92 – 1.76 (m, 4H), 1.62 – 1.52 (m, 1H), 1.31 – 1.23 (m, 3H), 1.17 – 1.11 (m, 1H), 1.02 (s, 9H)。

【0132】 下一個步驟如方案 10 所示進行。



式 10　　式 9

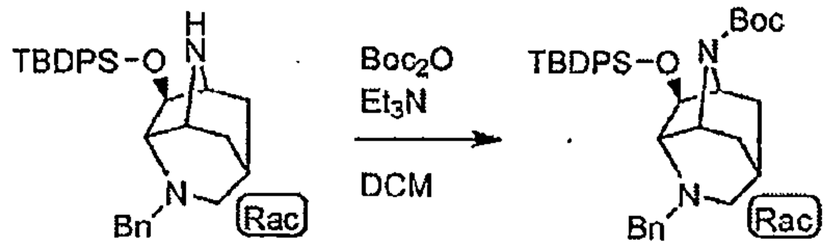
方案 10

【0133】 將碘三甲基矽烷(75.0 g, 375 mmol, 51 ml)添加至式 10 化合物(73.9 g, 124 mmol, 93%)於 1.2 L 無水甲苯中之溶液以產生黃色反應混合物，其在 85℃下攪拌隔夜。

【0134】 然後，取得樣本並且藉由 TLC 分析，其顯示反應已經完成。所得反應混合物係深色溶液，並且允許冷卻至室溫（懸浮液）並且用 250 mL 之 MeOH 來淬滅。隨後將混合物濃縮至大約 250 mL。然後添加 750 mL 之 DCM 並且混合物用 750 mL 之 1:1 飽和 $NaHCO_3$ 水溶液/H_2O 來洗滌。然後，有機層用 750 mL 鹽水洗滌、以 Na_2SO_4 乾燥、過濾、並且在減壓下濃縮以提供大約 72 g，或 92%產率之呈深黃色/橙色油之式 9 化合物（rac-(2R,3R,6S,7aS)-4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶）。取得樣本並且藉由 LCMS（圖 10）分析，其顯示正確質量，並且產物具有約 80%之純度，其中於 0.448 之峰係甲苯。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-d) δ 7.69 – 7.63 (m, 4H), 7.47 – 7.37 (m, 6H), 7.26 – 7.12 (m, 5H), 4.36 (s, 1H), 3.73 – 3.70 (m, 1H), 3.39 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 3.26 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.06 (s, 1H), 2.90 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 2.79 – 2.74 (m, 1H),

2.41 (bs, 1H), 1.90 – 1.80 (m, 4H), 1.67 – 1.64 (m, 1H), 1.11– 0.99 (m, 10H)。

【0135】 下一個步驟如方案 11 所示進行。



式 9　　式 8

方案 11

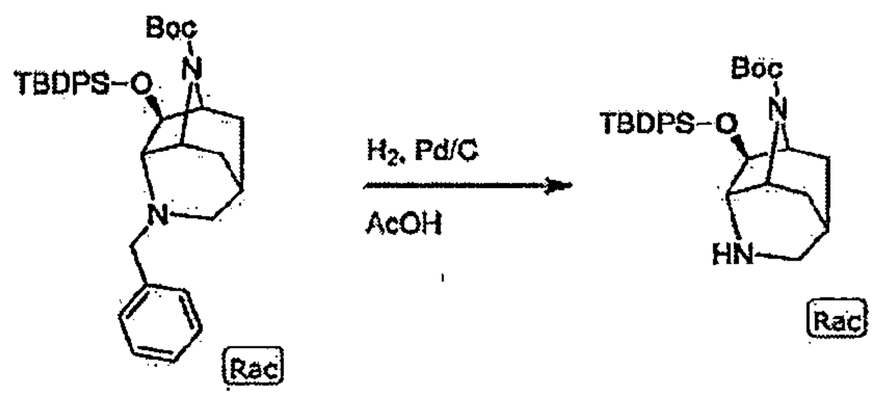
【0136】 Et_3N (48.3 g, 477 mmol, 0.067 L)及二碳酸二(三級丁基)酯(Boc_2O) (39.1 g, 179 mmol)添加至式 9 化合物(72 g, 119 mmol, 80%)於 1 L 二氯甲烷中之溶液以形成淡黃色溶液，其在室溫下攪拌過週末。

【0137】 取得樣本並且藉由 TLC 分析，其顯示反應完成。溶液用 250 mL 之 DCM 稀釋並且用 1 L 飽和 $NaHCO_3$ 水溶液及 1 L 鹽水洗滌。然後，有機層以 Na_2SO_4 乾燥、過濾、並且濃縮以提供大約 80 g 粗製產物。

【0138】 藉由重力管柱層析（800 g，庚烷/[EtOAc 1->10%]）純化而提供 68.4 g，或 94%產率之呈無色玻璃之式 8 化合物（rac-(2R,3R,6S,7aS)-三級丁基 4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）。

【0139】 取得樣本並且藉由 ^{1H}NMR（圖 11A）及 LCMS（圖 11B）分析，其顯示產物與式 8 結構之間一致，並且進一步顯示產物含有 4 w/w%庚烷。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 7.73 – 7.65 (m, 4H), 7.47 – 7.35 (m, 6H), 7.24 – 7.10 (m, 5H), 4.53 – 4.40 (m, 1H), 4.24 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 4.10 – 3.92 (m, 1H), 3.44 – 3.32 (m, 2H), 2.87 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 2.33 – 2.77 (m, 1H), 1.93 – 1.72 (m, 4H), 1.65 – 1.54 (m, 1H), 1.50 – 1.47 (m, 9H), 1.10 – 1.02 (m, 10H)。

【0140】 下一個步驟如方案 12 所示進行。



式 8　　式 7

方案 12

【0141】 在氮流下，活性碳(7 g, 125 mmol)載鈀（10%）添加至式 8 化合物(72.9 g, 125 mmol)於 600 mL 乙酸中之溶液。將容器關上並且所得混合物在 50℃且由氣球產生氫氣氛下攪拌 2 小時。

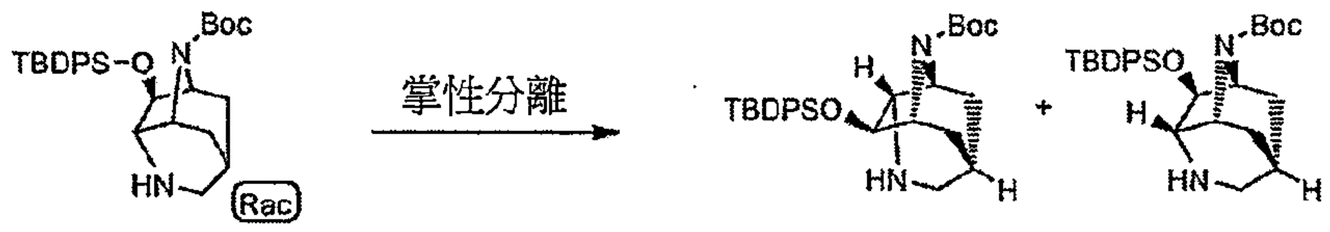
【0142】 將混合物在 50℃下攪拌隔夜。黑色懸浮液以經 EtOH 沖洗之矽藻土過濾並且濾液在減壓下濃縮。殘餘物用 0.5 L 甲苯汽提兩次，然後其溶解於 1 L 乙醚中。

【0143】 接著，有機層用 1 L 之 10%(w/v) K_2CO_3 水溶液、1 L 鹽水洗滌、以 Na_2SO_4 乾燥、過濾、並且在減壓下濃縮，然後再次用戊

烷汽提以提供 58.5 g 稠棕褐色糊漿(syrup)，式 7 化合物(rac-(2R,3S,6S,7aS)-三級丁基 3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯)。

【0144】 取得樣本並且藉由 ^{1H}NMR（圖 12B）及 LCMS（圖 12A）分析，其顯示產物與式 7 結構一致並且含有 5.1 重量%之甲苯及 1.3 重量%之正戊烷。^{1H}NMR (400 MHz，氯仿-*d*) δ 7.68 – 7.63 (m, 4H), 7.45 – 7.35 (m, 6H), 4.40 – 4.25 (m, 1H), 4.13 – 3.93 (m, 2H), 3.41 – 3.36 (m, 1H), 2.97 – 2.92 (m, 1H), 2.62 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 1.96 – 1.78 (m, 2H), 1.67 (s, 1H), 1.64 – 1.56 (m, 1H), 1.49 – 1.47 (m, 9H), 1.16 – 1.13 (m, 1H), 1.05 – 1.04 (m, 9H)。

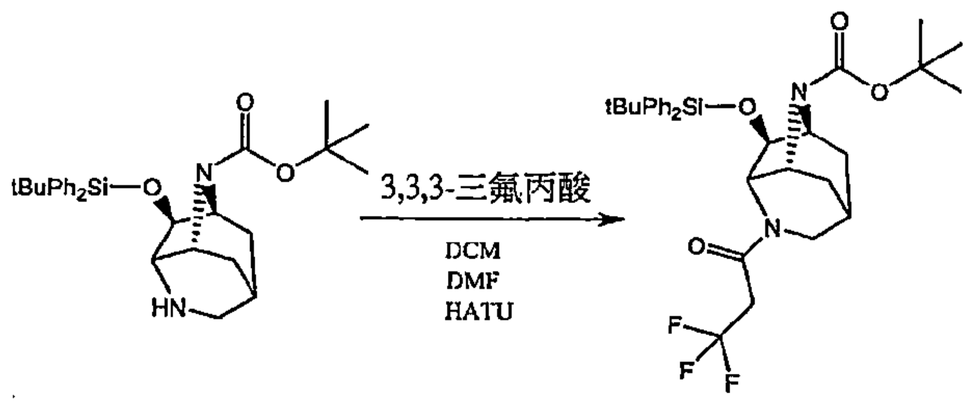
【0145】 經由具有 90/10 $scCO_2$/iPrOH + 0.2%異丙胺沖提液之 Welkho-1 管柱上之超臨界液體層析(SFC)，將式 7 化合物分離成其相應鏡像異構物，如方案 13 所示。



式 7　　式 6.a　　式 6.b

方案 13

【0146】 下一個步驟如方案 14 所示進行。



式 6.b　　式 5

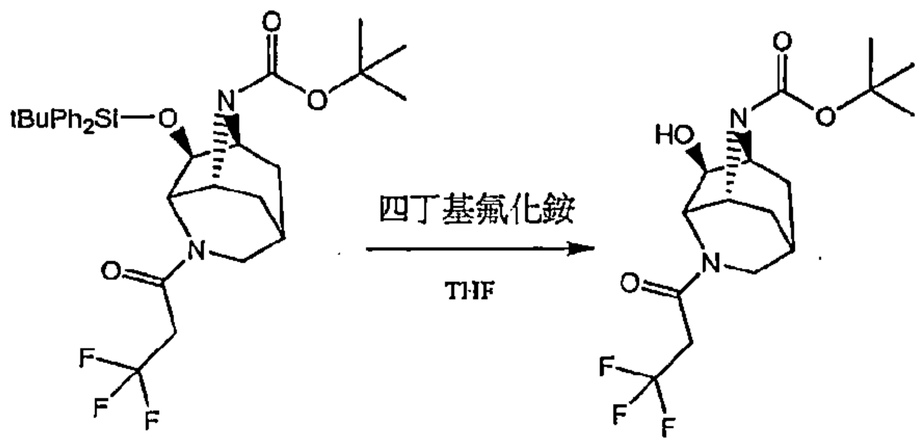
方案 14

【0147】 將 3,3,3-三氟丙酸(3.629 mL，41.1 mmol，1.5 eq)溶於 DCM (120 mL)及乾 DMF (10 mL)中。將 DIPEA (7.16 mL, 41.1 mmol, 1.5 eq)及 HATU (六氟磷酸 1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物) (15.63 g, 41.1 mmol, 1.5 eq)加入，且將該混合物於室溫下攪拌 1.5 小時。導致澄清紅棕色溶液形成。

【0148】 將在 DCM (100 mL)中之式 6.b 化合物(13.5 g, 27.4 mmol)溶液加入該溶液，且將該溶液於室溫下攪拌 4 小時。

【0149】 將該反應混合物以 DCM (250 mL)稀釋、以水性 1 M $KHSO_4$ (400 mL)、飽和水性 $NaHCO_3$ (400 mL)、水(400 mL)、鹽水(250 mL)洗滌、以 Na_2SO_4 乾燥並真空濃縮以提供 22.74 g (> 100%)為棕色油之式 5 化合物((2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)-4-(3,3,3 三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯)。

【0150】 下一個步驟如方案 15 所示進行。



式 5　　式 4

方案 15

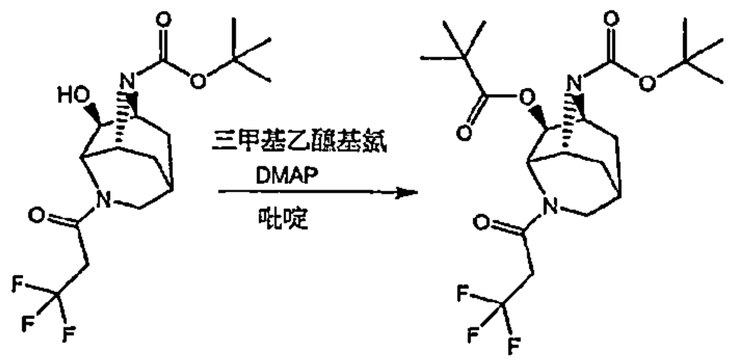
【0151】 將式 5 化合物（最高 27.4 mmol）溶於無水 THF (115 mL)中。

【0152】 將於 THF (1 M, 82 mL, 82 mmol)中之四丁基氟化銨溶液加入，且將該反應混合物於 50℃下攪拌隔夜。LCMS 分析顯示完全轉化成所欲之物質。

【0153】 將溶液於真空中濃縮並與 50% EtOAc/庚烷共蒸發兩次 (2 x，各 100 mL)，以提供 38.66 g 為棕色油之粗製物質。將該物質溶於 25% EtOAc/Et_2O (800 mL)中並用水洗滌（2 次，各 600 mL）。將水層合併並用 25% EtOAc/Et2O (400 mL)萃取。將有機層合併、用鹽水(400 mL)洗滌、以 Na_2SO_4 乾燥、並真空濃縮以提供 15.14 g 為棕色油之物質。

【0154】 藉由重力管柱層析純化（梯度係 50% EtOAc/庚烷至 100% EtOAc），產生 5.85 g 為白色泡沫之式 4 化合物 ((2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-羥基-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯)（2 步驟，58%）。

【0155】 下一個步驟如方案 16 所示進行。



式 4　　式 3

方案 16

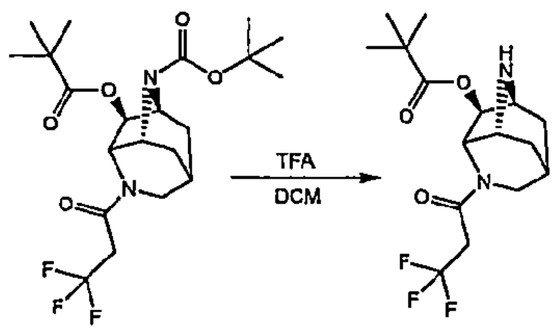
【0156】 將式 4 化合物(5.85 g, 16 mmol)溶於吡啶(50 mL)中，隨後加入 DMAP (二甲基胺基吡啶) (1.96 g, 16.06 mmol)及三甲基乙醯基氯(3.95 mL, 32.1 mmol)。

【0157】 將反應混合物於 60℃下攪拌隔夜。LCMS 分析顯示完全轉化成所欲之物質。使反應混合物冷卻至室溫（形成淡棕色懸浮液），並於真空中濃縮。

【0158】 將殘餘物以 EtOAc (250 mL)稀釋並以水性 0.5 M $KHSO_4$ (200 mL)及飽和水性 $NaHCO_3$ (250 mL)洗滌。各次皆額外 EtOAc (50 mL)萃取水層。

【0159】 將合併之有機層以鹽水(200 mL)洗滌、以硫酸鈉乾燥、過濾、且蒸發至乾燥，以產生 6.8 g 之粗製物質。藉由快速管柱層析純化（EtOAc/庚烷梯度），提供 5.49 g (76%)為白色泡沫之式 3 化合物（(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-三級丁基 3-(三甲基乙醯基氧基)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）。LCMS 分析：純度 > 95%，觀察到 449.3 [M+H]+ & 393.2 (M-(C4H8)+H]+)。

【0160】 下一個步驟如方案 17 所示進行。



式 3　　式 2

方案 17

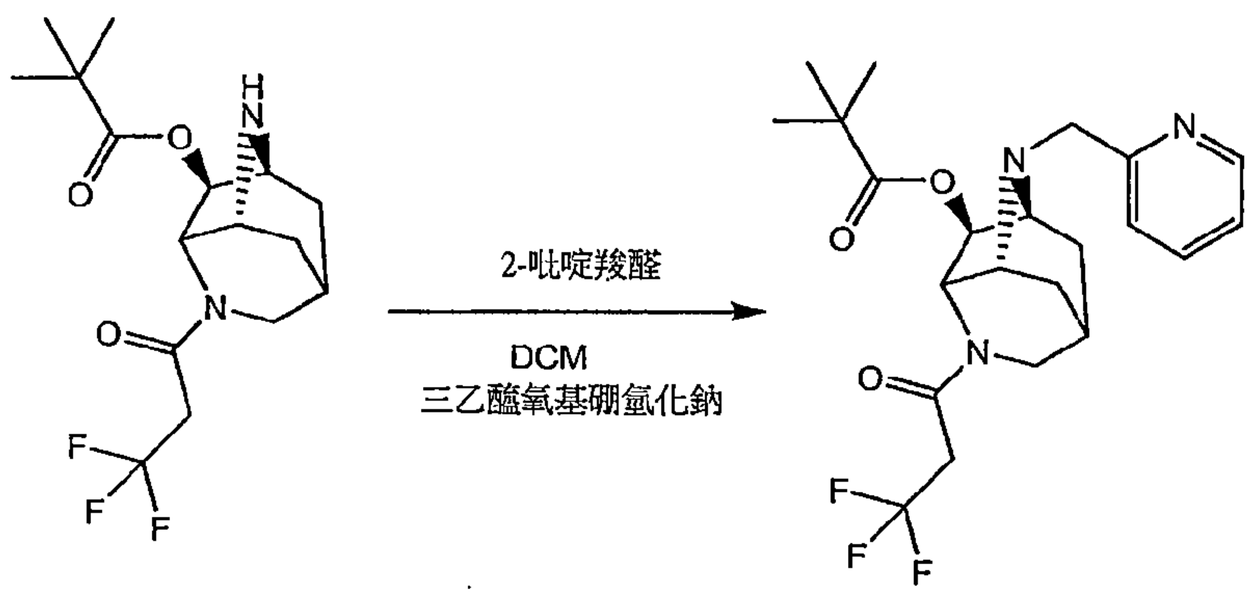
【0161】 將式 3 化合物(1 g, 2.23 mmol)溶於 DCM (20 mL)中。

【0162】 將 TFA（三氟丙酸）(8.54 mL, 111 mmol)加入，並將該混合物於室溫下攪拌 1 h。LCMS 分析顯示完全轉化成所欲之物質。

【0163】 將反應混合物於真空中濃縮並與甲苯共蒸發（2 次，各 20 mL）。將殘留物溶於氯仿(40 mL)並以水性飽和 Na_2CO_3 溶液(40 mL)洗滌。將水相用氯仿（3 次，各 20 mL）萃取。

【0164】 將有機層合併、以鹽水(70 mL)洗滌、乾燥(Na_2SO_4)、過濾、並減壓蒸發，以提供 769.9 mg (99%)為灰白色固體之式 2 化合物（(2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基三甲基乙酸酯）。藉由 ^{1H}NMR 分析來確認結構，如圖 13 中所示。

【0165】 下一個步驟如方案 18 所示進行。



式 2　　式 1

方案 18

【0166】 將式 2 化合物(693.8 mg, 1.99 mmol)溶於 DCM (20 mL)中。

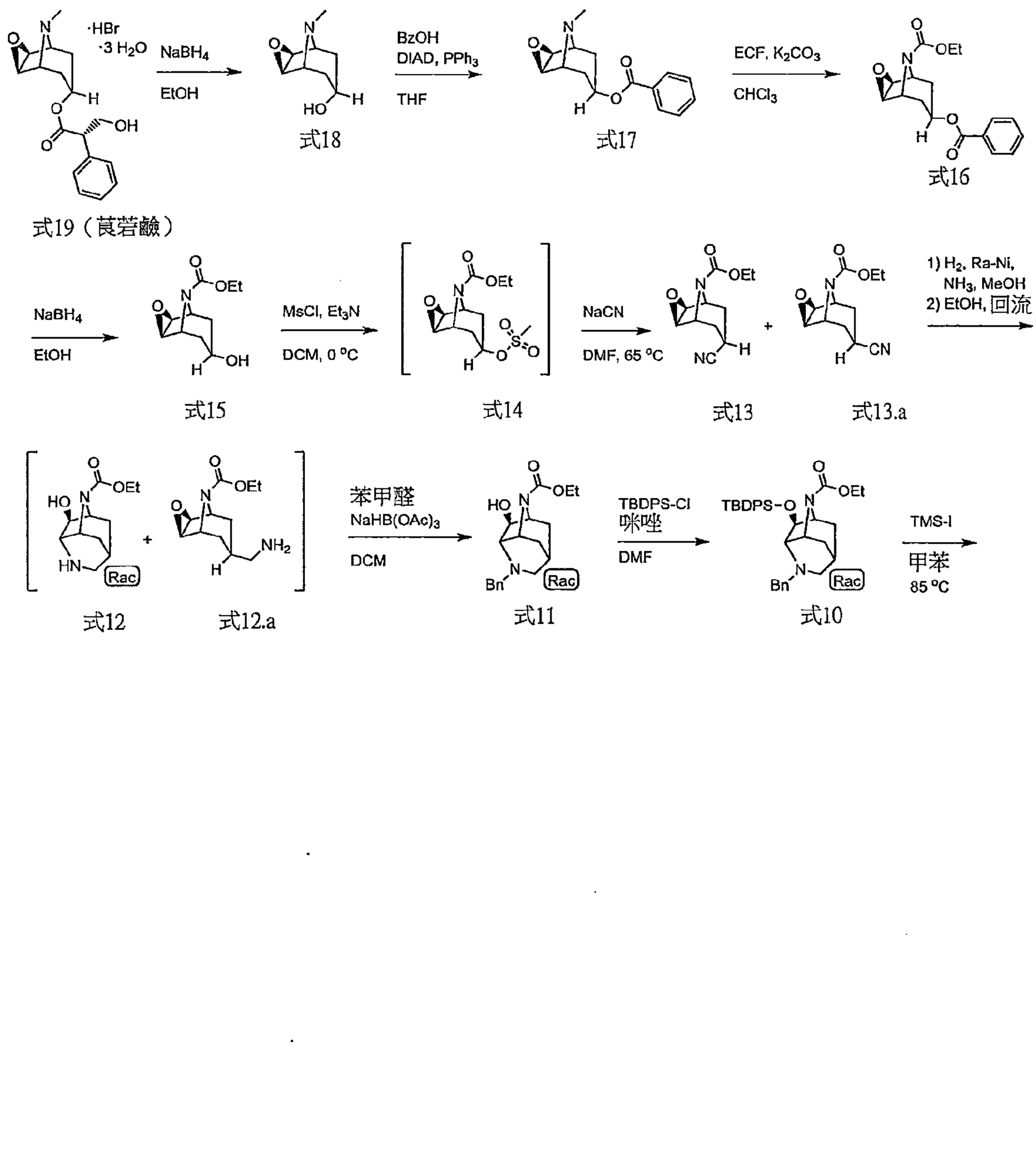
【0167】 添加 2-吡啶甲醛(284 μL, 2.99 mmol)，且將混合物攪拌 2 小時。接著，將三乙醯氧基硼氫化鈉(696 mg, 3.29 mmol)加入，且將該混合物於室溫下攪拌隔夜。

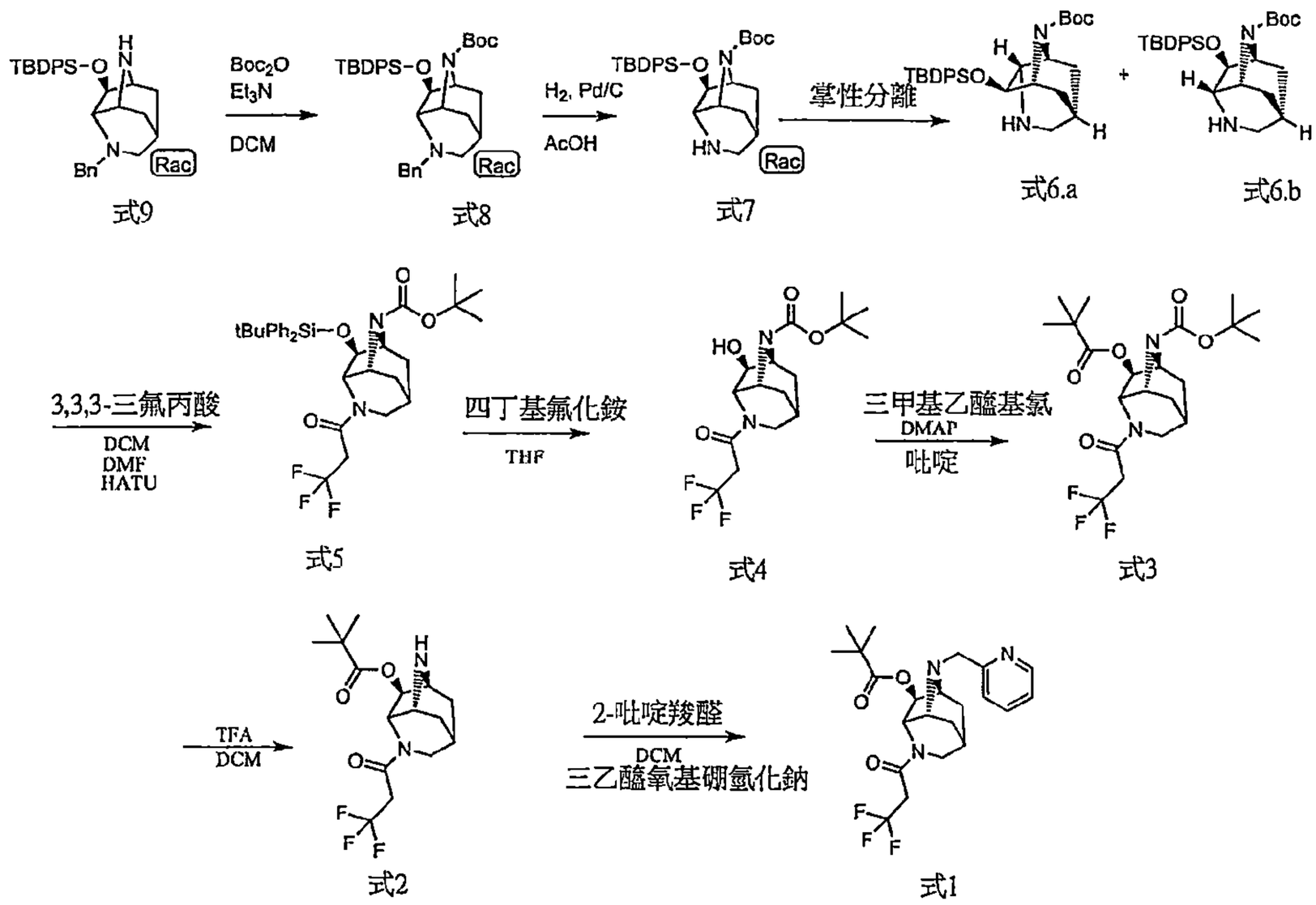
【0168】 LCMS 分析顯示完全轉化成所欲之物質。將混合物在真空中濃縮。將殘留物溶於氯仿(40 mL)並以水性飽和 Na_2CO_3 溶液(40 mL)洗滌。將水相用氯仿（3 次，各 20 mL）萃取。將有機層合併、以鹽水(70 mL)洗滌、乾燥(Na2SO4)、過濾、並減壓蒸發，以提供粗製物質。

【0169】 藉由管柱層析純化（氧化矽，梯度係 14% EtOAc/庚烷至 100% EtOAc)，以提供 718 mg 之油狀物質。將該油溶於 EtOAc (~10 mL)中、並以濾紙過濾、再次於真空中濃縮並依序以乙腈、戊烷、及 Et_2O 共蒸發以提供 658 mg (75%)為泡沫之式 1 化合物((2S*,3S*,3aS*,6R*,7aR*)-1-(吡啶-2-基甲基)-4-(3,3,3-三氟丙醯基)

八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-3-基三甲基乙酸酯）。結構藉由 ^{1H}NMR 分析確認，如圖 14 中所示，且絕對立體化學係藉由 x 光分析來確認。

【0170】 將起始反應物轉換成式 1 化合物之此等合成步驟之概述提供於方案 19 中，如下。





方案 19

實例 2：非類鴉片 (non-opiod)、非 NSAID 作用模型

【0171】 使用紫杉醇模型以研究式 1 之 MoA。

【0172】 以媒劑加巴噴丁(gabapentin)或式 1 處理重複紫杉醇劑量後顯示化療所誘發之疼痛的動物。於測試物之第一劑量後及 7 日之每日處理後收集血漿。於 7 日之每日處理後，亦收集後爪皮膚。將組織加工處理，且評估 1310 種蛋白質的表現量（SomaLogic, Inc., Boulder, CO 所提供之 Somascan）。

【0173】 使用三種統計方法，以識別在第 8 日單一劑量後、及研究中第 14 日多次投劑後，對式 1、加巴噴丁、及媒劑加以鑒別之蛋白質表現。

【0174】 也進行各群組內第 8 日及第 14 日之間的比較。所有方法均以量表化數據(scaled data)進行。首先，進行 Student 氏 t 檢定，

以在群組間對蛋白質進行比較。第二，應用 LASSO（最小絕對緊縮與選擇運算子(least absolute shrinkage and selection operator)）方法。此為迴歸技術，其同時執行變數選擇及模型係數修正(model coefficient modification)。這些模型使用群組作為結果、及所有 1310 個蛋白質作為起始預測變數。接著，LASSO 經調整以緊縮不重要係數至零，留下大約十個最重要群組預測變數（或群組之間的判別子）。

【0175】 所使用之最後方法係隨機森林(Random Forest)。隨機森林係隨機選擇的蛋白質次群組、以該次群組為基礎創建分類樹以鑒別兩個群組之集成(ensemble)方法。重複該過程 2000 次。接著，基於蛋白質在樹中之表現將各蛋白質的變數重要性加以排名。

【0176】 LASSO 方法自動給出前 10 名群組鑑別之預測變數。T檢定及隨機森林結果分別以 p 值及平均準確度降低(Mean Accuracy Decrease)來分選，且選擇來自這些結果的前 10 名。對藉由統計學分析所選擇的前 10 名預測變數置以進一步關卡(barrier)，以進一步選擇有意義之改變：(1)所選擇之蛋白質在血漿及皮膚中應排名在前 10 個重要蛋白質之間；(2)該改變於血漿及皮膚中應有相同方向；以及(3) Student 氏 t 檢定中的 p 值應等同或小於 0.01。

【0177】 此分析及篩選過程顯示符合所有標準之單一蛋白質，即14-3-3σ（分層蛋白(STRATIFIN)基因）。生物統計分析顯示，在皮膚中，14-3-3σ使用 LASSO 排名方法時排名第二，而使用隨機森林排名方法則排名第 8。相對於媒劑之 Student 氏 t 檢定顯示 p 值係 0.0110。探索血漿中所獲得之蛋白質的改變，當比較第 8 日及第 14 日時，14-

3-3σ在使用 LASSO 排名方法時排名第 7，且 Student 氏 t 檢定的 p 值係<0.01。

【0178】 圖 15 顯示在以媒劑、加巴噴丁、或式 1 處理後第 8 日至第 14 日，分層蛋白之相對降低百分比。相對於未經處理之動物(naïve animal)，以式 1 處理導致幾乎 50%的分層蛋白減少。相對於在經媒劑所處理之動物中所觀察到的改變，這些改變具顯著性。相對於經媒劑所處理之動物，於研究第 14 日時，式 1 之處理顯著減少皮膚中之 14-3-3σ表現（圖 16）。

實例 3：透過靶定 14-3-3o 之推定 MoA：生物重要性

【0179】 根據 Li 等人之發表，發現到選定之 14-3-3 異構物（包括 o 異構物）與 $Ca_v2.2$ 離子通道交互作用，該離子通道係電位閘控型 Ca^{2+}通道之次類型，為突觸前神經末梢中的神經傳遞物釋放中樞。他們報導 14-3-3 蛋白質(E、t、y、o、及≥異構物）在開啟及關閉狀態兩者均減少 Ca^{2+}通道的失活。此蛋白質-蛋白質交互作用係藉由 14-3-3 o 結合至含有至少二個 14-3-3 可能交互作用位點的形成通道孔洞之 a1B 次單元之羧基尾部來調介。

【0180】 Cav2.2 係 N 型鈣通道。此通道調介脊髓中的疼痛信號之神經傳遞，這使得抑制該神經傳導成為治療慢性疼痛的理想標靶。Prialt®（Jazz Pharmaceuticals，辛抗寧(ziconotide)）係選擇性 Cav2.2 阻斷劑，業經 FDA 批准用於慢性疼痛治療。雖然該藥物經證明有效治

療一些慢性疼痛患者，但該藥物有嚴格限制，包括其侵入性投予途徑（脊髓內）及低治療窗口(therapeutic window)。

【0181】 相對於近期可用於治療疼痛之辛抗寧 Cav2.2 阻斷劑，式 1 可提供一些優勢。式 1 並非直接靶定 CaV2.2，而是藉由減少 14-3-3 導致 14-3-3/Cav2.2 交互作用減少且最終減少 Ca^{2+}流入來間接調節。相對於已報導之辛抗寧副作用，式 1 之治療後，並未觀察到副作用及耐受性作用。在一些神經性疼痛模型中有觀察到累積性止痛劑反應，且在其他模型中有觀察到較長的持續性反應。式 1 係僅有的經由口服投予有活性的 Cav2.2 調節物。

實例 4：Senerga®表型篩選數據

【0182】 式 1 係於全面 Senerga®表型篩選後而經發現。該化合物於疼痛相關模型中顯示活性，而未有影響未經處理動物之退縮閾值(withdrawal threshold)，暗示受限之 CNS 作用。式 1 對腫脹無效果，因此排除類似 NSAID 之作用機制。

【0183】 該化合物展現良好藥理學安全特徵(safety profile)，未有立即性警示現象（未有對血壓之作用、死後(post-mortem)未有發現、未有對體重或食物攝取之作用、且未有對特定 CNS 相關測試之作用）。此初步數據暗示式 1 及其化學類似物可係藉由潛在新穎作用機制治療疼痛之候選物。

實例 5：體外吸收之生體可用率

5.1：使用 Caco-2 細胞單層之滲透性

【0184】 使用 Caco-2 細胞單層來評估式 1 的細胞滲透性。在分析中，頂端至底側(A-B)及底側至頂端(B-A)雙向滲透性及流出比率兩者均予評估。所觀察到之 $_{Papp}$ A-B 係 6.6×10-6 cm/s，展現中度被動滲透性（10×10-6 cm/s ? $_{Papp}$ A-B? 1×10-6 cm/s 係被認定為中度滲透性）。

【0185】 所觀察到之 $_{Papp}$ B-A 係高的，為 68.3×10-6 cm/s，導致流出比率為 10.4。此高流出比率暗示該化合物係一或多個流出運輸蛋白(efflux transporter)之受質。當流出運輸蛋白抑制劑（*Pgp* 抑制劑）加至分析中時，該 $_{Papp}$ A-B 值自 6.6×10-6 cm/s 增至 45.2×10-6 cm/s，展現出該化合物係此流出運輸蛋白(Pgp)的良好受質。

5.2：物理化學性質

【0186】 式 1 具有良好物理化學性質（MW<500Da, cLogP 及 cLogD=2.6，且未有違反「五規則」）。低極性表面積(PSA<70 Å2)也暗示該化合物應為良好膜及腦穿透劑（表 1）。

表 1：式 1 之物理化學性質

化合物	MW	ALogP	cLogP	cLogD_7_4	#HD	#HA	#RB	PSA	Frac_SP3C	RoF
式 1	439.5	3.2	2.6	2.6	0	6	7	62.74	0.68	0

實例 6：藥物動力學研究

【0187】 MD-354 之藥物動力學研究係於對進行小鼠 50 mg/kg 口服及 5 mg/kg 靜脈內投予後進行（圖 17）。於靜脈內投予 5 mg/kg 後，初始血漿濃度(C0)達到 7941 ng/mL。血漿濃度以多相方式於投劑後 8 小時降低至 6.74 ng/mL，終末半衰期為 0.35 h（排除在第 8 小時時間點之數據）。該化合物展現 46.1 mL/min/kg（小鼠肝血流率：90 mL/min/kg）的中等全身性血漿廓清率(CLp)及 1.08 L/kg 的中度穩定態體積分佈(Vss)。

【0188】 在口服投予 50 mg/kg 後，峰值血漿濃度(Cmax)於 5 min 內達成，到達 1933 ng/mL。血漿濃度以多相方式於投劑後 8 小時降低至 0.76 ng/mL。終末半衰期係 0.85 h。絕對口服生體可用率係相對在 10.5%。

【0189】 二組另外的小鼠口服數據顯示在所有研究中都有類似的藥物動力學數據分布。峰值的 354 個血漿濃度高，在 3157 ng/mL 及 3001 ng/mL，且均於 5 min 內達到。血漿濃度於投予後 8 小時分別降低至 8.4 ng/mL 及 11.4 ng/mL，終末半衰期分別為 1.19 h 及 1.25 h。兩組數據分別顯示口服生體可用率值為 14.1%及 14.7%。

實例 7：組織分布

7.1 體外研究：血漿蛋白結合

【0190】 式 1 的血漿蛋白結合分析係使用平衡透析方法，在 1 μM 單一濃度下於小鼠及人血漿中進行。該化合物顯示中度至高度血

漿蛋白結合，在小鼠及人血漿分別為 84%及 92%血漿蛋白結合。該化合物的血漿蛋白結合係可接受的。

7.2 體外研究

7.2.1 式 1 於小鼠組織中的量

【0191】 組織分布研究係藉由以 50 mg/kg 之劑量將化合物口服及靜脈內投予小鼠來進行。血漿及組織樣本係自 5 min 至 8 h 在各種不同時間點收集。於口服投劑後所測得的組織對血漿濃度比係 0.6（範圍：0.3 至 1.1，腦）、3.2（範圍：1.9 至 5.0，脊髓）、6.5（範圍：0.9 至 10.3，肝）、24.0（範圍：5.1 至 59.9，肺）、6.6（範圍：1.2 至 14.9，心）、16.9（範圍：4.3 至 26.8，腎）、77.5（範圍：11.5 至 341，脾）、29.2（範圍：6.3 至 50.2，盲腸）、67.4（範圍：11.6 至 326，結腸）、5.2（範圍：2.1 至 8.0，睪丸)。該化合物在這些組織中的濃度-時間數據分布大體上遵循在血漿中的濃度-時間數據分布。在這些選定之組織的組織對血漿濃度比大體上在上市藥物之正常範圍內。

【0192】 一般而言，要花相當大的努力才能發現腦及脊髓穿透性 CNS 藥物。當測試化合物不是藉由攝入或流出運輸蛋白來調介時，腦的量通常用作為替代脊髓的量。流出運輸蛋白 Pgp 高度表現於血腦屏障及血-脊髓屏障的管腔面(luminal side)上。當藥物係 Pgp 之受質時，例如式 1，該化合物在 CSF 中應具有比在腦中來得高的濃度，此乃因

為該化合物在 BBB 處係自腦泵出，但在 BCSFB 處泵入 CSF，這使化合物可以進入脊髓組織。

【0193】 血液、CSF、及脊髓中的該化合物濃度之間有複雜平衡。在 CSF 中之高濃度，會在脊髓中產生大的濃度。由於式 1 係 *Pgp* 受質且係高度組織結合性，相較於腦組織，其在脊髓組織中的較高濃度不令人驚訝（表 2）。

器官	途徑		HL_λ_z (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	AUClast (h*ng/mL)	AUCINF_obs (h*ng/mL)	Cl_F_obs (ml/h/kg)	Vz_F_obs (ml/kg)
血漿	SC	平均值	0.37	1896.50	0.25	1377.67	1390.00	7217.50	3847.83
		SD	0.03	143.22	0.00	99.59	83.66	440.01	414.54
腦		平均值	0.39	1375.33	0.25	789.67			
		SD	0.04	363.34	0.00	118.73			
脊髓		平均值	0.53	**11932.33**	0.25	6214.00			
		SD	0.06	2279.38	0.00	481.07			
血漿	PO	平均值	1.20	3079.17	0.08	2593.50	2611.33	40333.00	72161.50
		SD	0.20	410.73	0.00	619.75	613.48	10506.83	31248.75
腦		平均值	0.74	6749.00	0.08	2766.67			
		SD	0.21	1682.19	0.00	347.82			
脊髓		平均值	1.56	**29979.33**	0.08	15450.67			
		SD	0.65	5397.53	0.00	3160.44			

實例 8：代謝運輸蛋白

8.1 體外代謝

8.1.1 血液/血漿穩定性

【0194】 式 1 在小鼠及人血漿兩者中均穩定，t90 值大於 4 h，而在大鼠血漿中不穩定，t90 小於 1 h（t90 應大於 4 h 以被認定為穩定)。因此，大部分療效及安全性藥理學研究係於小鼠進行。

8.1.2 跨物種的肝微粒體/肝細胞代謝穩定性

【0195】 在小鼠、大鼠、及人肝微粒體中的代謝穩定性研究係在 1 μM 化合物濃度下進行。在小鼠及大鼠肝微粒體中的內生廓清率(CLint)數值> 346 μL/min/mg（t1/2 係< 4 min），且在人類肝微粒體中係 174 μL/min/mg（t1/2 係 8 min）。因為該化合物顯示了良好細胞滲透性，而這可能表示該化合物經歷大量體循環前代謝(pre-systemic metabolism)或在測試物種的肝中之首渡效應。

【0196】 來自此研究之結果顯示，N-脫烷化及氧化顯然是主要代謝路徑。在所有三種物種中，總共偵測到五種代謝物。在小鼠及大鼠肝微粒體中的代謝數據分布未有顯著差異，暗示可使用小鼠或大鼠作為齧齒類物種的 GLP 毒性研究。由於在小鼠及人血漿中的該化合物血漿穩定性之類似性，毒性研究較佳係在小鼠中進行。在此研究中，未有偵測到獨特的人代謝物。

8.2 酶抑制及誘導

8.2.1 CYP450 酶之抑制

【0197】 對主要 CYP450 酶之可逆抑制之初步體外研究係於此化合物之混合液(cocktail)形式中進行。CYP2C9 之 IC50 值係 4 μM，CYP2C19 之 IC50 值係 5 μM，而 CYP3A4、2C8、2D6、及 1A2 之之 IC50 值係大於 10 μM。若在人的總血漿濃度係小於 0.4 μM，則可能不需要此話物在臨床試驗中的體內藥物交互作用研究。

實例 9：排泄

9.1 體外研究

【0198】 對小鼠口服投予 50 mg/kg 劑量及靜脈內投予 5 mg/kg 劑量之式 1 後，評估母化合物之糞便排泄。來自口服及靜脈內投劑之糞便峰值濃度分別係 150 μg/g 及 33 μg/g。這些峰值濃度大體上在口服後 1 h 內及在靜脈內投劑後 5 min 內達成。即使藉由兩種投予途徑投劑後 8 h 後，濃度仍然係高的（大於 1 μg/g）（圖 18）。

實例 10：非臨床安全性藥理學

10.1 體外安全性藥理學分布測定(profiling)

【0199】 hERG 的 IC50 大於 10 μM。一般公認對 hERG 及其他重要心臟標靶之安全限度係≥ 30（安全限度計算為：IC50/Cmax，游離態；或 EC50/Cmax，游離態）。此暗示可達到至少 4 μM 之在人的總血漿濃度，及 30 之安全限度。

【0200】 對式 1 進行 Cerep 活性篩選，在 10 μM 下，對選定標的為陰性（包括一些重要心血管安全性相關標的）。

10.2 體內安全性藥理學分布測定

10.2.1.一般安全性觀察

【0201】 於小鼠及大鼠中評估式 1 之耐受性。在小鼠中，於腹膜內投劑 30 mg/kg、皮下投劑 60 mg/kg、及口服投劑 50 mg/kg 的 5 日後，該化合物的耐受性佳。在小鼠中，該化合物於 100 mg/kg 單一劑

量後亦能耐受。接受每日一次 50 mg/kg 的式 1 口服投劑持續 5 日的時間之大鼠，並未顯示任何不良反應（表 3）。

表 3：使用不同投予途徑重複投劑式 1 後之安全性藥理學數據。NPF-未有病理學發現。

途徑	最大測試劑量	投劑期間（日）	物種	發現
IP	10 mg/kg	31	小鼠	NPF
IP	30 mg/kg	5	小鼠	NPF
SC	60 mg/kg	5	小鼠	NPF
PO	50 mg/kg	5	小鼠	NPF
PO	100 mg/kg	1	大鼠	NPF
PO	50 mg/kg	5	大鼠	NPF

10.3.CNS 安全性藥理學

a.開放空間測試(Open field test)

【0202】 小鼠接受 10 mg/kg IP 劑量之式 1。30 分鐘後，將動物置於開放空間設備中（長、寬、高 0.5×0.5×0.5 m 的盒子）持續 5 min 的時間。評估動物走動距離及速度，並與經媒劑處理之組別比較。經媒劑處理的動物及經式 1 處理的動物之間未觀察到差異（表 4）。

表 4

	距離(m)	在該空間中央的時間(sec)
媒劑	1.81 ± 0.75	22.94±10.65
式 1	1.94±0.89	34.82±23.53
p 值	0.93	0.19

b.食物攝取

【0203】 在動物接受每日 10 mg/kg IP 劑量的式 1 期間，於 3 個連續日時間，測試該等動物之食物攝取。在食物攝取方面，式 1 處理之動物相對於以媒劑處理之動物並未偵測到改變。經媒劑處理之動物每晚攝取平均 4.39±0.61 g，而經式 1 處理之動物每晚攝取 4.00±0.20g。

c.體重

【0204】 分別將式 1 投劑給未經治療之小鼠及未經治療之大鼠 31 日及 7 日，並未影響體重增加。在 4 日後，經媒劑處理之動物增重約 1%體重，從 25.24±0.74 g 至 25.50±0.64 g。經式 1 處理之動物從 25.28±1.04 g 變成 25.82±1.25 g。

【0205】 以 10 mg/kg IP 劑量經式 1 處理持續 31 日的時間之動物，增加了 15.64%體重（自 21.44±0.18 g 改變至 25.49±0.46 g）。經媒劑處理之動物增加約 18.9%體重（從 21.45±0.19 g 改變至 23.97±0.62 g；p=0.07），因此未發現顯著性改變。

d.未經處理之動物對熱及冷刺激之反應

【0206】 未經處理之動物於藥物處理後對熱及冷刺激正常退縮閾值反應之改變，可反映 CNS 作用，如同大麻素類(cannabinoids)及鴉片類的情況。因此，評估未經處理小鼠於投予 10 mg/kg IP 劑量之式 1 後的反應（表 5）。式 1 未有效改變以冷(2±1℃)或熱(50±1℃)刺激的動物之基底反應，表示未有 CNS 作用。此亦可暗示式 1 係作用在於疼痛

狀態中升高或暴露於疼痛狀態中且較不相關於未經處理狀態(naive state)之標的上。

表 5：未經處理之動物對熱及冷刺激反應潛伏期

	對熱刺激(50±1℃)之反應秒數	對冷刺激(2±1℃)之反應秒數
媒劑	15.40±3.10	27.60±14.58
式 1	12.87±2.59	20.6±11.39
p 值	0.13	0.37

實例 11：式 1 在神經性疼痛模型中的體內活性

【0207】 對於式 1 之初始原理驗證研究使用 IP 投予途徑。然而，在大部分以式 1 進行的研究中，選擇的投予途徑係 SC 或 PO。簡易實驗流程大綱提供於各節中，以供理解結果而不會詳盡闡述所有詳細程序。

【0208】 數據以平均±SD 呈現；每組的動物數目呈現於研究大綱表框中；$p<0.05$ 被認定具顯著性改變。療效總結表亦包括類似物之活性。

11.1.於小鼠的紫杉醇誘發之神經性疼痛中，以 SC 投予式 1 之活性

【0209】 簡要研究大綱：每日以紫杉醇對動物投劑持續連續 8 日的時間（第 0 日至第 7 日）。在研究第 8 日，於藥物投劑前，藉由應用 von Frey 測試驗證退縮力量（觸摸痛(tactile allodynia)）的減少。在將動物分派至其等之處理組後，將動物以不同劑量的媒劑或式 1 每日處理持續 5 日。150 mg/kg 劑量之加巴噴丁僅在測試日才投劑（第 8 日及第 14 日）。

【0210】 圖 19 中呈現之數據顯示紫杉醇投劑後 8 日，以媒劑處理之動物經歷顯著低的退縮力量。這樣的低退縮力量於整個研究期間均維持。以加巴噴丁處理導致退縮力量增加持續 4 小時的時間，表示止痛劑有活性。以低至如 1 mg/kg 劑量的式 1 處理，產生明顯止痛劑活性持續 24 h 至 3 日的時間。

【0211】 使用熱板設備組，在 50℃ 下，評估對熱刺激的反應。每日紫杉醇處理造成潛伏期反應時間的降低。在紫杉醇投劑前的基期，動物對熱反應時間係 28.10±1.60 sec（經媒劑處理組別）。紫杉醇處理後八日，反應時間明顯下降(9.90±2.18 sec, $p<0.01$)。在研究的第 13 及 17 日，反應時間仍明顯低於基期（分別為 11.70±2.11 及 11.10±1.79 sec）。以 10 mg/kg、3 mg/kg、及 1 mg/kg 劑量的式 1 處理，對增加反應時間具活性。然而，值得關注的是，式 1 對熱痛覺過敏(heat hyperalgesia)之有益活性，相較於單一劑量後研究第 8 日，重複每日化合物投劑後研究第 14 日更明顯（表 6）。這暗示式 1 之活性隨時間增加，而非如預期的由於對近期使用之藥物的耐受性而下降。

表 6：式 1 對熱（熱，50℃）痛覺過敏之效果

處理	研究日數											
	第 0 天	第 8 天					第 14 天					第 17 天
	時間(h)相對於處理投劑											
	紫杉醇投劑	投劑前	1	2	4	6	投劑前	1	2	4	6	未處理
	平均值											
媒劑	28.1	9.9	11.9	13.1	12.8	12.3	11.7	10.7	12.8	12.4	12.7	11.1
加巴噴丁 150 mg/kg	28.5	11.1	18.9*	22.5*	16.7	13.8	11.2	25.1*	25.0	25.1*	18.7*	11.5
10 mg/kg 式 1	28.5	11.2	15.7	17.8*	15.8	14.3	14.5	18.5*	18.7*	19.3*	15.5*	10.4
3 mg/kg 式 1	28.6	12.2	15.7	19.4	14.8	14.1	19.7	18.4*	24.8*	23.6*	20.6*	12.2
1 mg/kg 式 1	28.8	11.4	11.9	22.8*	18.9*	18.5*	15.8*	14.9*	24.6*	24.2*	22.0*	12.4
	SEM											
媒劑	1.6	2.2	2.9	3.6	3.8	2.7	2.1	1.8	1.5	1.9	3.1	1.8
加巴噴丁	1.7	2.4	3.5	5.0	4.8	4.2	1.9	5.9	5.1	5.0	4.1	2.5
10 mg/kg 式 1	1.5	2.6	6.6	6.5	4.6	4.0	5.1	5.7	5.1	5.9	4.6	1.6
3 mg/kg 式 1	1.7	2.3	4.8	4.9	3.0	2.8	4.5	3.3	4.7	6.5	5.8	2.6
1 mg/kg 式 1	1.5	2.6	2.2	3.3	3.6	3.4	3.7	3.7	4.4	4.6	5.8	2.1

11.2 使用 SC 投予途徑，式 1 對小鼠慢性緊縮性損傷(chronic constriction injury) (CCI)模型之活性

【0212】 簡要研究大綱：於麻醉下將小鼠坐骨神經暴露，且繞著神經置放 3 個寬鬆結紮。使動物回復 3 日。接著，評估觸摸痛（von Frey 測試）及熱（熱為 50±1℃，冷為 2±1℃）痛覺過敏。將經歷觸摸痛之動物分派至其等的處理組（媒劑、加巴噴丁、及不同劑量之式 1）。之後，將動物以不同劑量媒劑或式 1 每日處理持續 5 日。150 mg/kg 劑量之加巴噴丁僅在測試日才投劑（第 3 日及第 7 日）。

【0213】 於 CCI 後三日，經媒劑處理之動物於 von Frey 測試後，經歷退縮力量減少。低退縮力量也在研究第 7 日展現（圖 20）。以 150 mg/kg 劑量的加巴噴丁處理，產生明顯但不完全的退縮力量逆轉。60 mg/kg 劑量的式 1 處理，於每日重複處理後，產生退縮力量顯著增加。

【0214】 除了退縮力量的降低，經媒劑處理之動物展現對冷的敏感性增加，如同從動物對冷板(2℃)反應時間減少所觀察到的（圖 21）。在手術前，以 150 mg/kg 劑量的加巴噴丁處理，增加動物反應時間至高於基期值的值，暗示不良 CNS 作用。30 mg/kg 及 60 mg/kg 的式 1 處理使得對冷刺激的反應時間增加。該活性在單一劑量後（研究第 4 日）2 h 及於重複每日投劑後研究第 7 日投劑後 2 h（研究第 6 日；圖 21）達到峰值。

【0215】 針對式 1，於重複投劑後，未有觀察到耐受性作用；相對地，重複投劑造成化合物活性的增加。式 1 對熱板測試的反應時間之效果不具顯著性。

11.3 使用口服途徑投予式 1 具活性

【0216】 使用紫杉醇模型（參見第 7.1 節中之大綱）來評估口服投予後式 1 之活性。50 mg/kg 劑量之式 1 在研究第 8 日單一投予後 2 h 具完全逆轉退縮力量之活性。於自第 8 日至第 14 日重複每日投劑後，此活性在研究第 14 日仍維持。有趣的是，式 1 於投劑後 24 h 顯著具活性，具增加之退縮力量（研究第 14 日投劑前，圖 22）。未注意

到耐受性作用。以 150 mg/kg 投劑之加巴噴丁於投劑後持續 4 h 的時間具活性。當動物引至熱板測試時，未觀察到活性。

【0217】 在此研究中，式 1 對熱痛覺過敏之效果與經媒劑處理組別不具統計差異。

11.4 對小鼠之活性總結

【0218】 表 7 總結在小鼠神經性疼痛模型中使用不同投予途徑於重複每日投予後的式 1 活性。有觀察到下列者：(1)以相對較低劑量之式 1 處理係與 150 mg/kg 的加巴噴丁一樣良好，且在一些情況中，甚至優於加巴噴丁；(2)式 1 活性期間長於加巴噴丁；(3) 150 mg/kg 劑量的加巴噴丁處理，造成對冷的反應時間增加，超過基期反應時間，暗示明確 CNS 作用。式 1 處理顯示未有 CNS 作用之活性。

表 7：354 對小鼠神經性疼痛動物模型之活性總結。

TI	模型	途徑	測試劑量 (mg/kg)	活性程度（最大效果-基期之%）	最大效果活性期間	活性峰值 (T)	最大活性劑量 (mg/kg)
加巴噴丁	CCI	IP	150	66%	4 至 6H	2 至 3H	150
		SC	150	64%	4 至 6H	2 至 3H	150
		SC	150	>100%	4 至 6H	2 至 3H	150
354	CCI	IP	3, 10 , 30	33%	>4H	2H	30
		SC	3, 10, 30, 60	43%	>4H	2H	60
		SC	3, 10, 30, 60	100%	>4H	2H	30
加巴噴丁	紫杉醇	SC	150	100%	4 H	2 至 4H	150
354	紫杉醇	SC	1,3,10	100%	第 3 日	1H 至 3 日	1
加巴噴丁	紫杉醇	PO	150	100%	4 H	2 至 4H	150
354	紫杉醇	PO	50	100%	24 H	2 至 6H	<50

11.5.在大鼠中之紫杉醇誘發神經性疼痛中，每次式 1 口服皆展現活性

【0219】 簡要研究大綱：以紫杉醇每日投予持續 17 日的時間（第 0 日至第 16 日）。在第 16 日，使用 von Fey 測試評估退縮力量。於重複紫杉醇投劑後，動物經歷退縮力量減少超過 60%。以 50 mg/kg 劑量之式 1 單一處理後，記錄到完全逆轉，即退縮力量類似紫杉醇投劑開始前所記錄之值。止痛劑活性期間係至少 6 h。經媒劑與經式 1 處理組別之間於投劑後 24 h 無顯著差異（第 23 日投劑前）。式 1 之活性

類似於以 150 mg/kg 劑量之加巴噴丁處理後所觀察到的活性（圖 23）。

【0220】 多重紫杉醇劑量使得體重減少，其在整個研究期間持續，且即使在第 15 日停止紫杉醇投劑後仍未停止。式 1 之處理中，體重減少速率減少（圖 24），暗示式 1 改善動物的一般健康狀態。

11.6.經口服投予之式 1 對大鼠中 CCI 誘發之神經性疼痛具活性。

【0221】 簡要研究計畫：SD 雄性大鼠如 Bennet and Xie7 所述處理。在研究第 7 日，評估動物對 von Frey 之敏感性。只有顯示退縮力量顯著減少之動物被分派至處理組。接著，以媒劑、加巴噴丁、或式 1 對動物投劑。式 1 之處理在單一劑量後 2 h 係無效的。然而，以 50 mg/kg 劑量之式 1 每日處理之後，化合物活性增加，且在研究第 11 日，在處理後 2 h，退縮閾值有顯著增加，暗示疼痛緩解（圖 25）。

【0222】 本說明書中說明並論述之實施例僅意欲教示所屬技術領域中具有通常知識者發明人所知製造及使用本發明之最佳方式。在本說明書中沒有任何一者應被認為限制本發明之範疇。所有呈現之實例係具代表性並且是非限制性的。本發明之上述實施例可經修改或變化，而不脫離本發明，如所屬技術領域中具有通常知識者鑒於以上教示認知者。因此應瞭解，在申請專利範圍及其均等物之範疇內，本發明可用不同於所具體描述者之其他方式來實施。

【0223】 應瞭解雖然為了簡單起見，式 1 至 18 化合物可能以特定掌性繪製，但是所屬技術領域中具有通常知識者將認知到如何產生

並分離此等各種異構物。因此，可瞭解式 1 至 18 化合物之所有異構物係在本申請案之申請範圍內。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

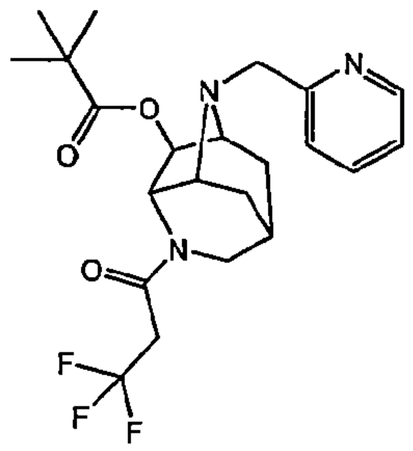
【序列表】(請換頁單獨記載)

無

專利申請案第 107120678 號
ROC Patent Application No. 107120678
修正之中文申請專利範圍替換本-附件(2)
Amended Claims in Chinese-Encl.(2)
(民國 109 年 03 月 24 日送呈)
(Submitted on March 24, 2020)

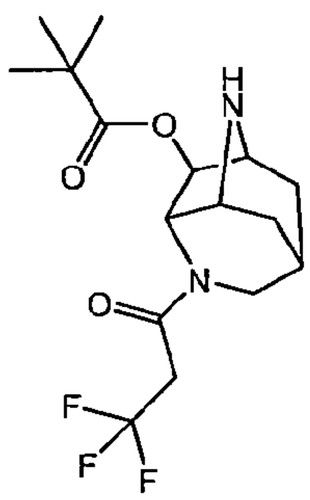
申請專利範圍

1. 一種製造式 1 化合物或其立體異構物之方法，



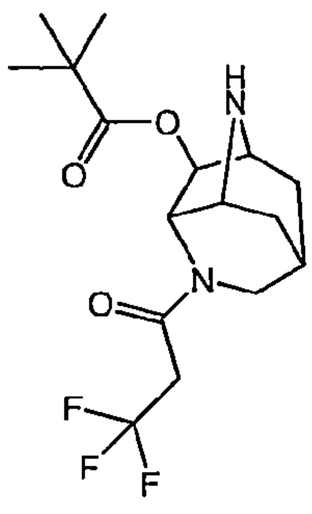
，

其包含起始反應物莨菪鹼與還原劑反應，且其中該方法進一步包含使式 2 化合物，



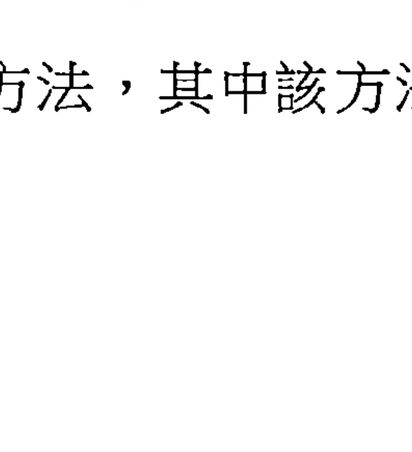
與還原劑反應。

2. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法包含使式 2 化合物，



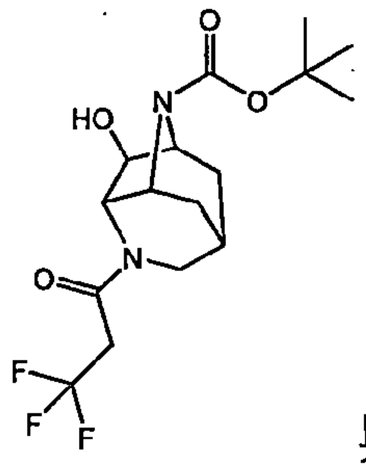
與 2-吡啶甲醛在還原劑的存在下反應。

3. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 3 化合物，



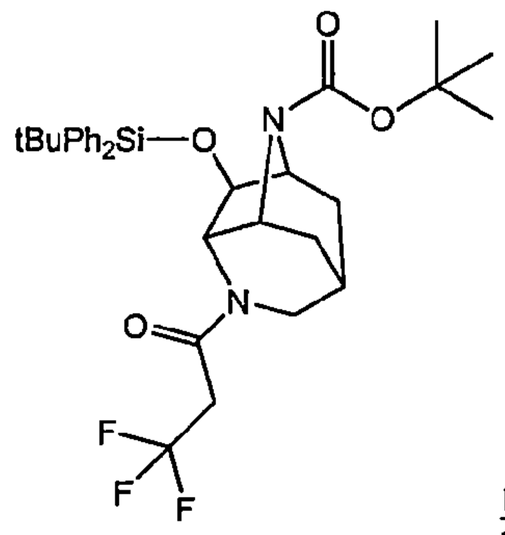
與酸反應。

4. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 4 化合物，



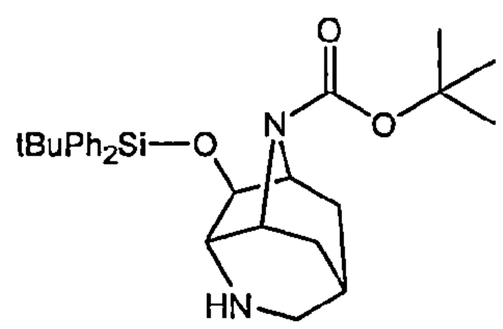
與二甲基胺基吡啶反應。

5. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 5 化合物，



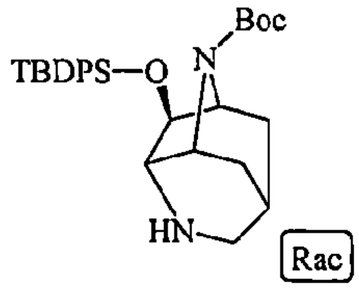
與四丁基氟化銨反應。

6. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 6.b 化合物，



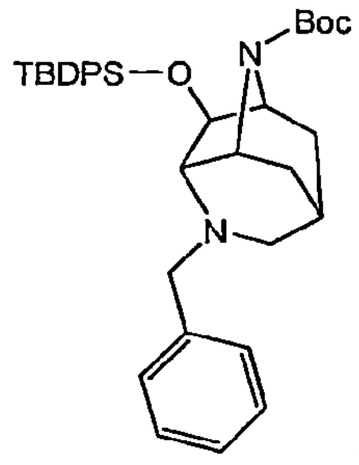
與 3,3,3-三氟丙酸與視情況的一或多種 N-N-二異丙基乙基胺或(六氟磷酸 1-[雙(二甲基胺基)亞甲基]-1H-1,2,3-三唑并[4,5-b]吡啶鎓 3-氧化物)三乙醯氧基硼氫化鈉反應。

7. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含掌性分離式 7 化合物



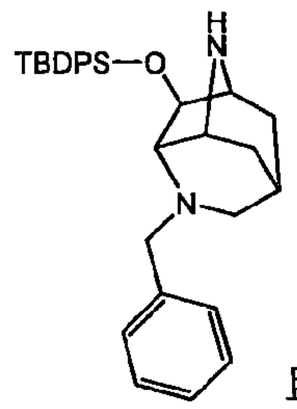
。

8. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 8 化合物，



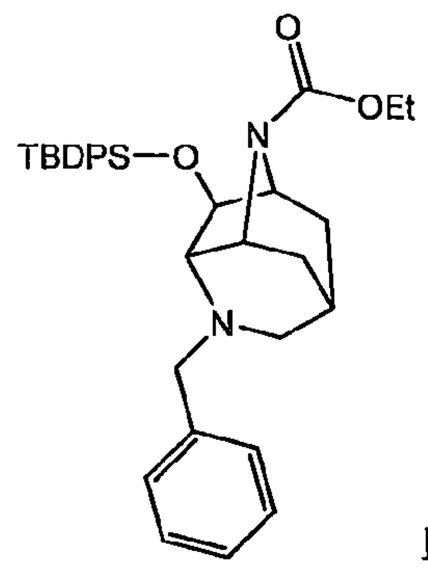
與氫反應，視情況在催化劑的存在下。

9. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 9 化合物，



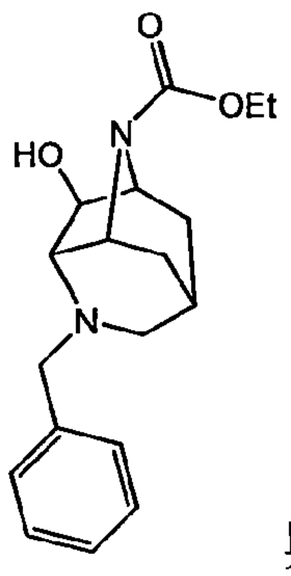
與二碳酸二(三級丁基)酯反應。

10. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 10 化合物，



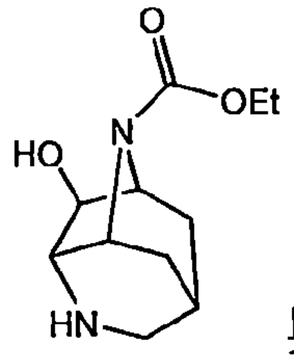
與碘三甲基矽烷反應。

11. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 11 化合物，



與三級丁基二苯基氯矽烷反應。

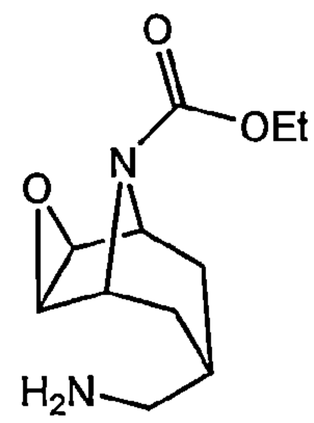
12. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 12 化合物，



與苯甲醛反應。

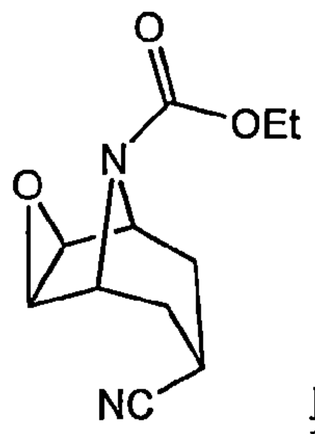
13. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含在溶劑中環化式

12.a 化合物



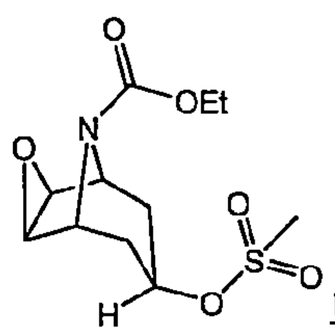
。

14. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 13 化合物，



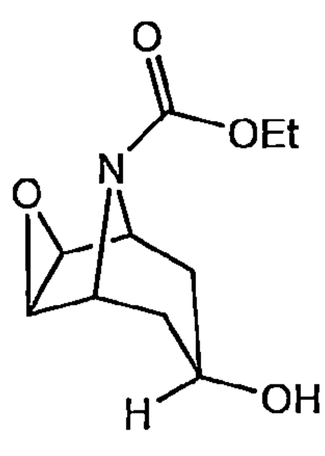
與氫反應，視情況在催化劑的存在下。

15. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 14 化合物，



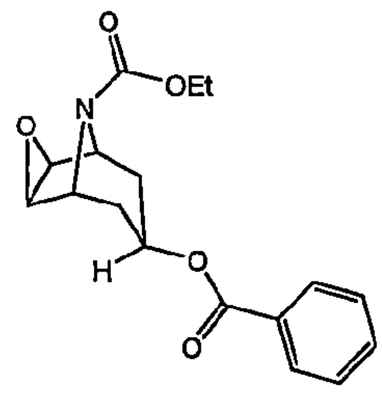
與氰化鉀反應。

16. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 15 化合物，



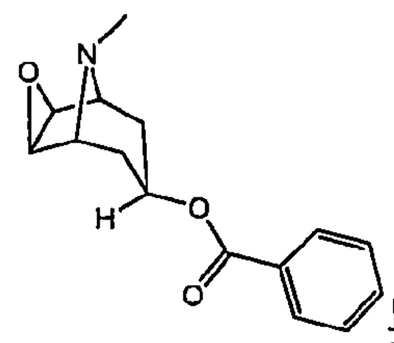
與甲磺醯氯反應。

17. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 16 化合物，



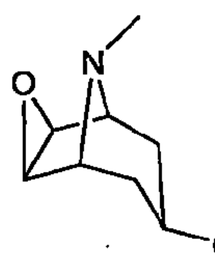
與還原劑反應。

18. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 17 化合物，



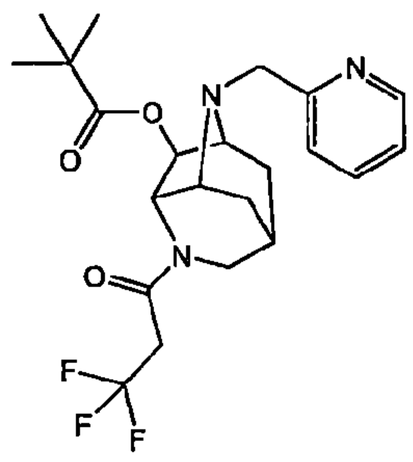
與氯甲酸乙酯反應。

19. 如請求項 1 所述之方法，其中該方法亦包含使式 18 化合物，



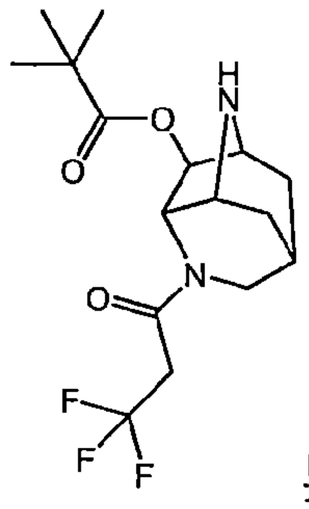
與苯甲酸在活化劑的存在下反應。

20. 一種製造式 1 化合物或其立體異構物之方法，



，

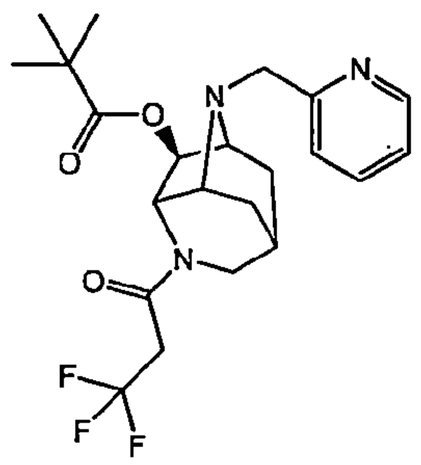
其包含使莨菪鹼與硼氫化鈉反應，且其中該方法進一步包含使式 2 化合物，



與還原劑反應。

21. 如請求項 1 或請求項 20 所述之方法，其進一步包含將式 1 化合物併入醫藥組合物中，該醫藥組合物包含治療有效量的式 1 化合物以及醫藥上可接受之載劑或稀釋劑。

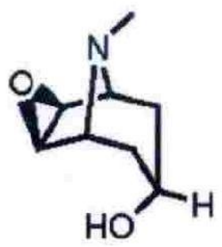
22. 如請求項 1 或請求項 20 所述之方法，其中該式 1 化合物之立體異構物為



。

圖式

式18化合物（(1R,2R,4S,5S)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-醇）之H-NMR



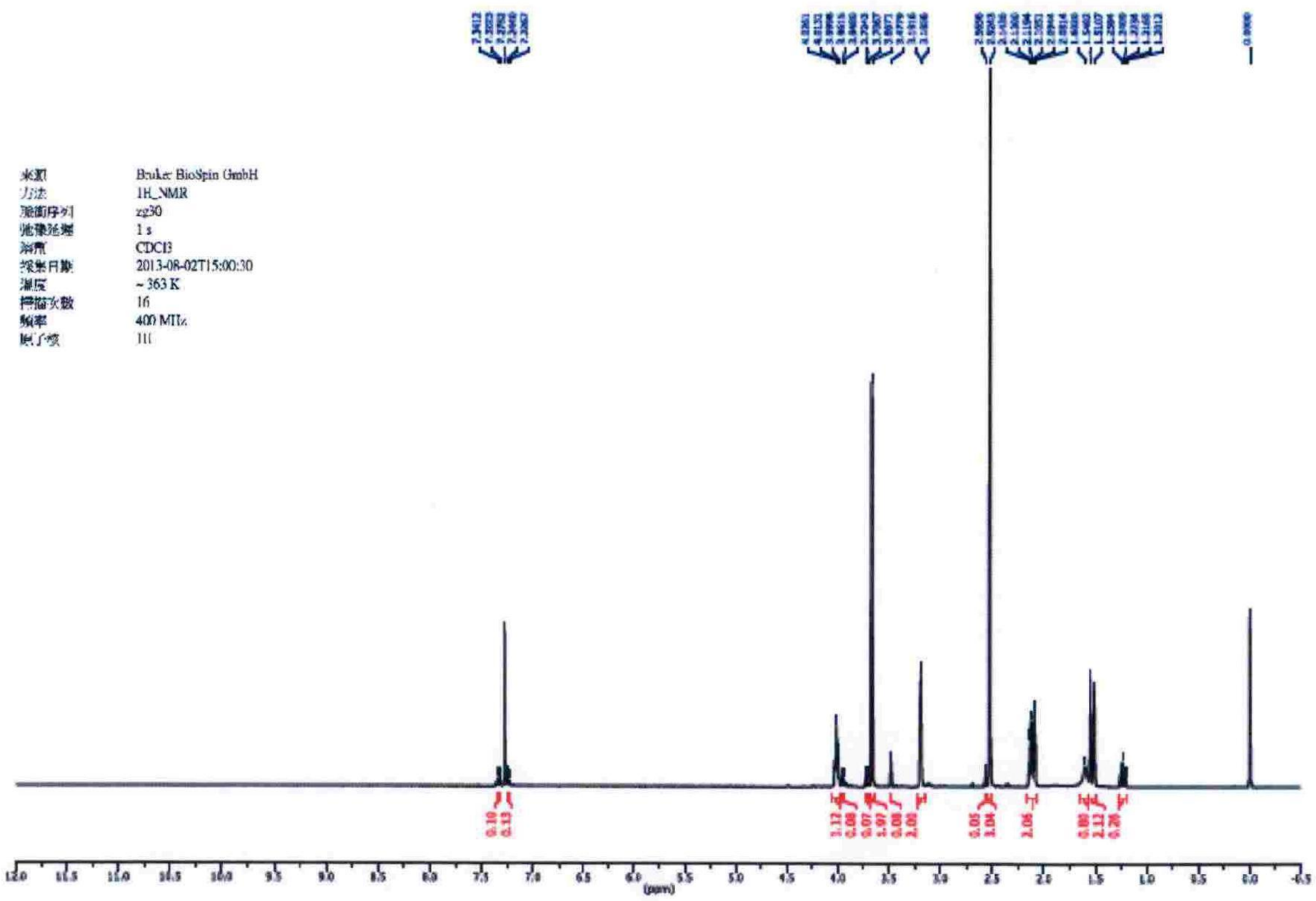
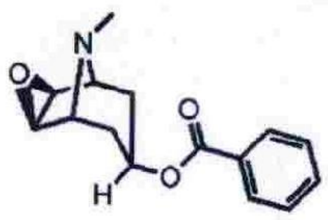


圖1

式17化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-9-甲基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-7-基苯甲酸酯）之質譜



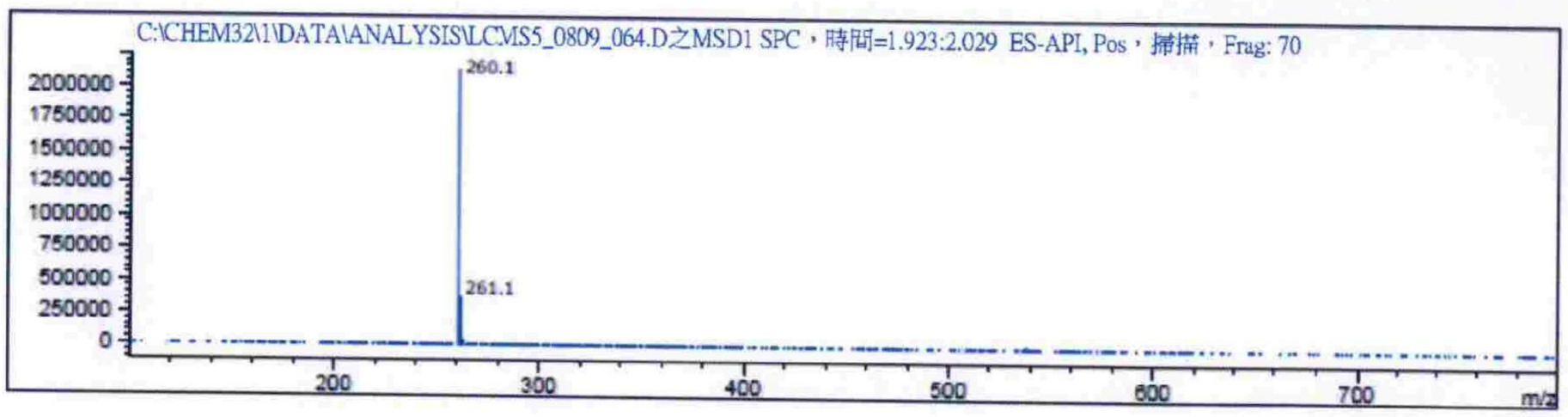
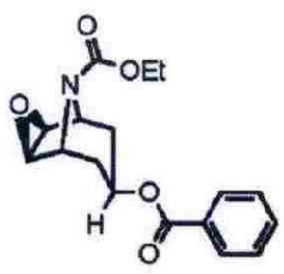


圖2

式16化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基7-(苯甲醯基氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）之質譜及H-NMR



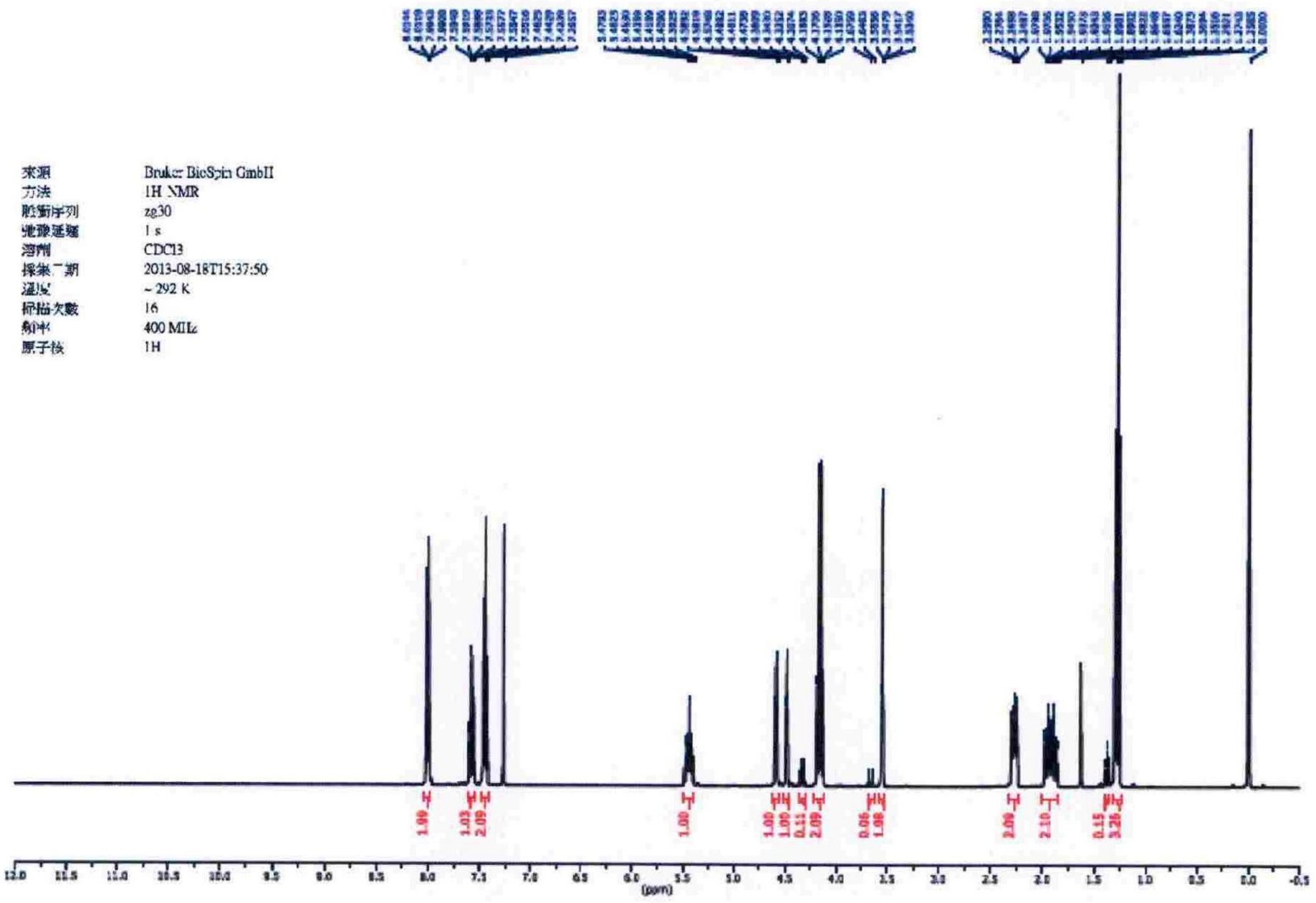


圖3A

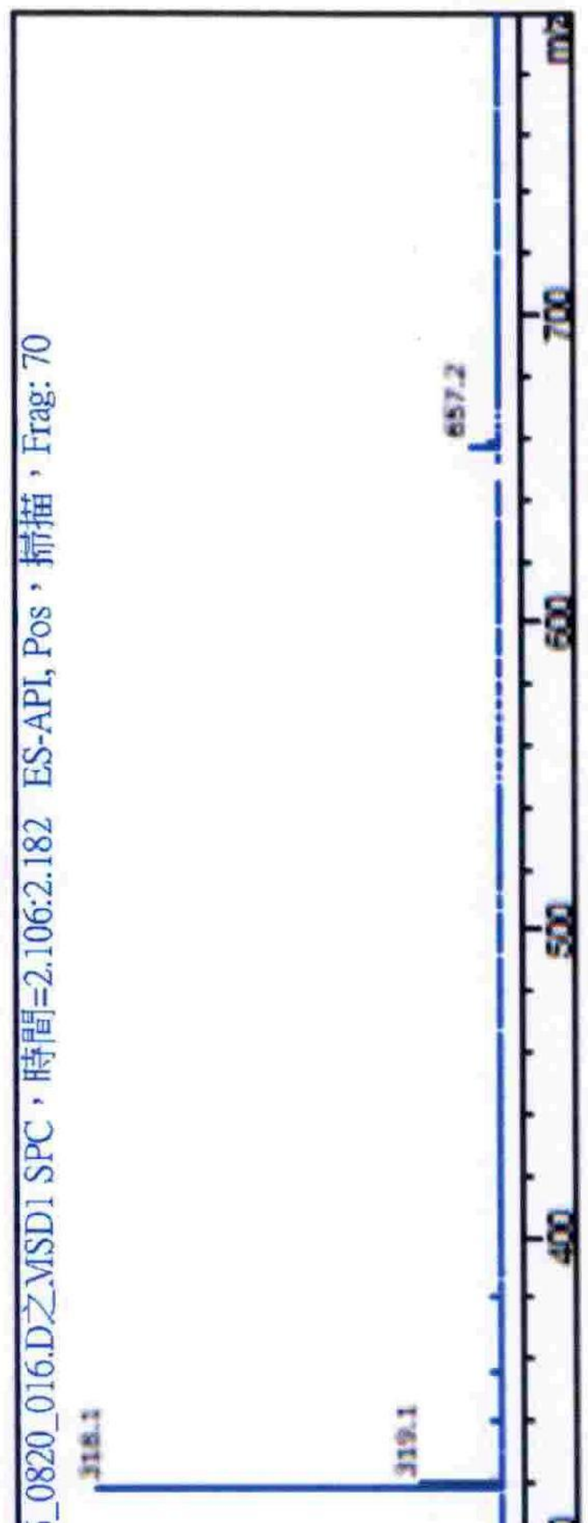
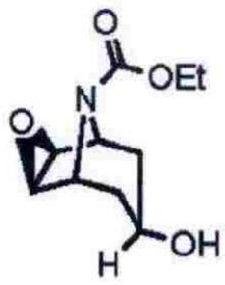

C:\CHEM32\1\DATA\ANALYSIS\LCMS5_0820_016.D之MSD1 SPC，時間=2.106:2.182 ES-API, Pos，掃描，Frag: 70
318.1
319.1
657.2
m/z
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
200
300
400
500
600
700

圖3B

式15化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基7-羥基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）之H-NMR



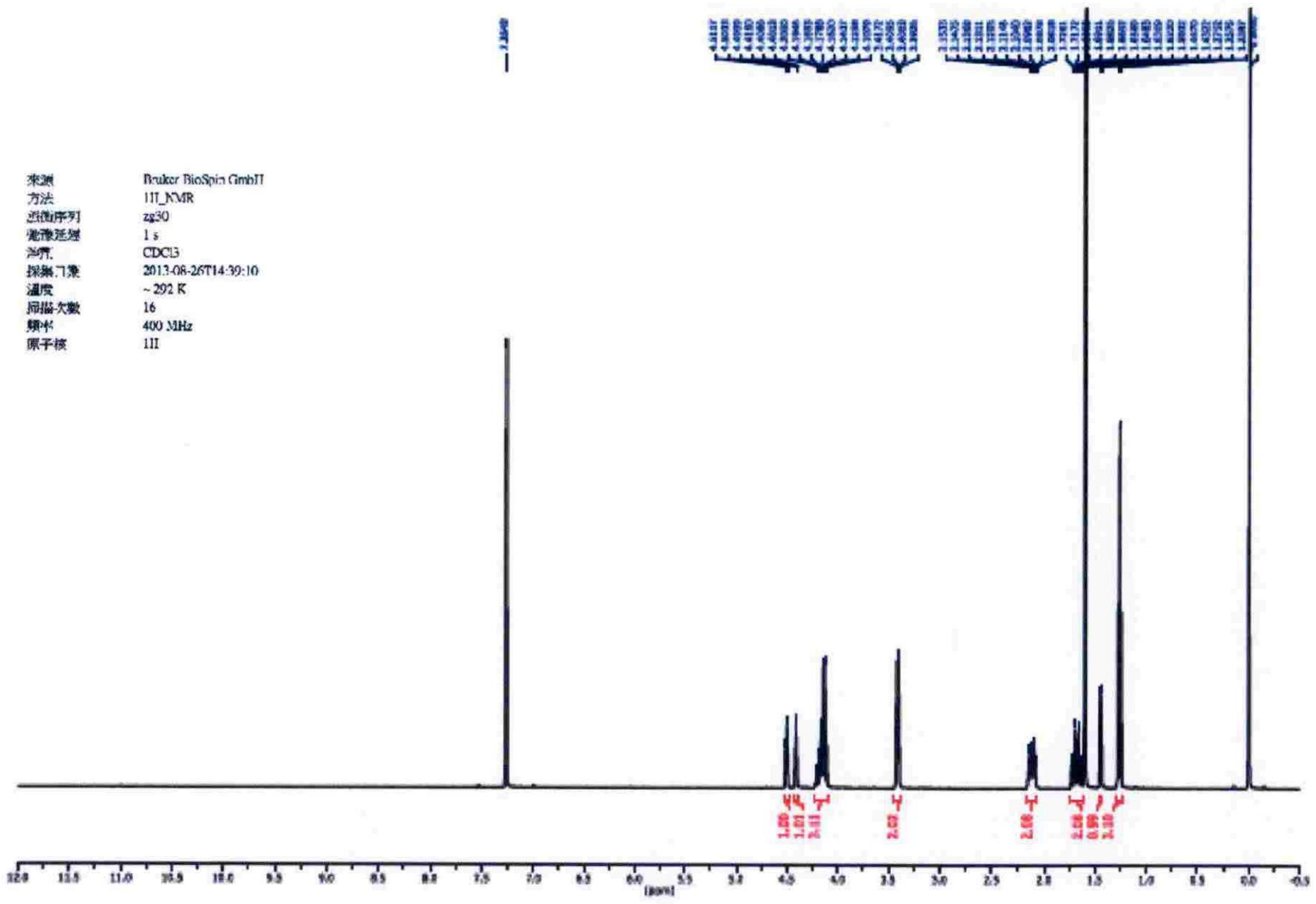
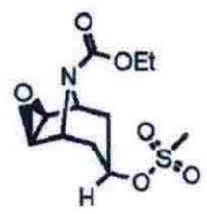


圖4

式14化合物（(1R,2R,4S,5S,7r)-乙基7-((甲基磺醯基)氧基)-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）之H-NMR



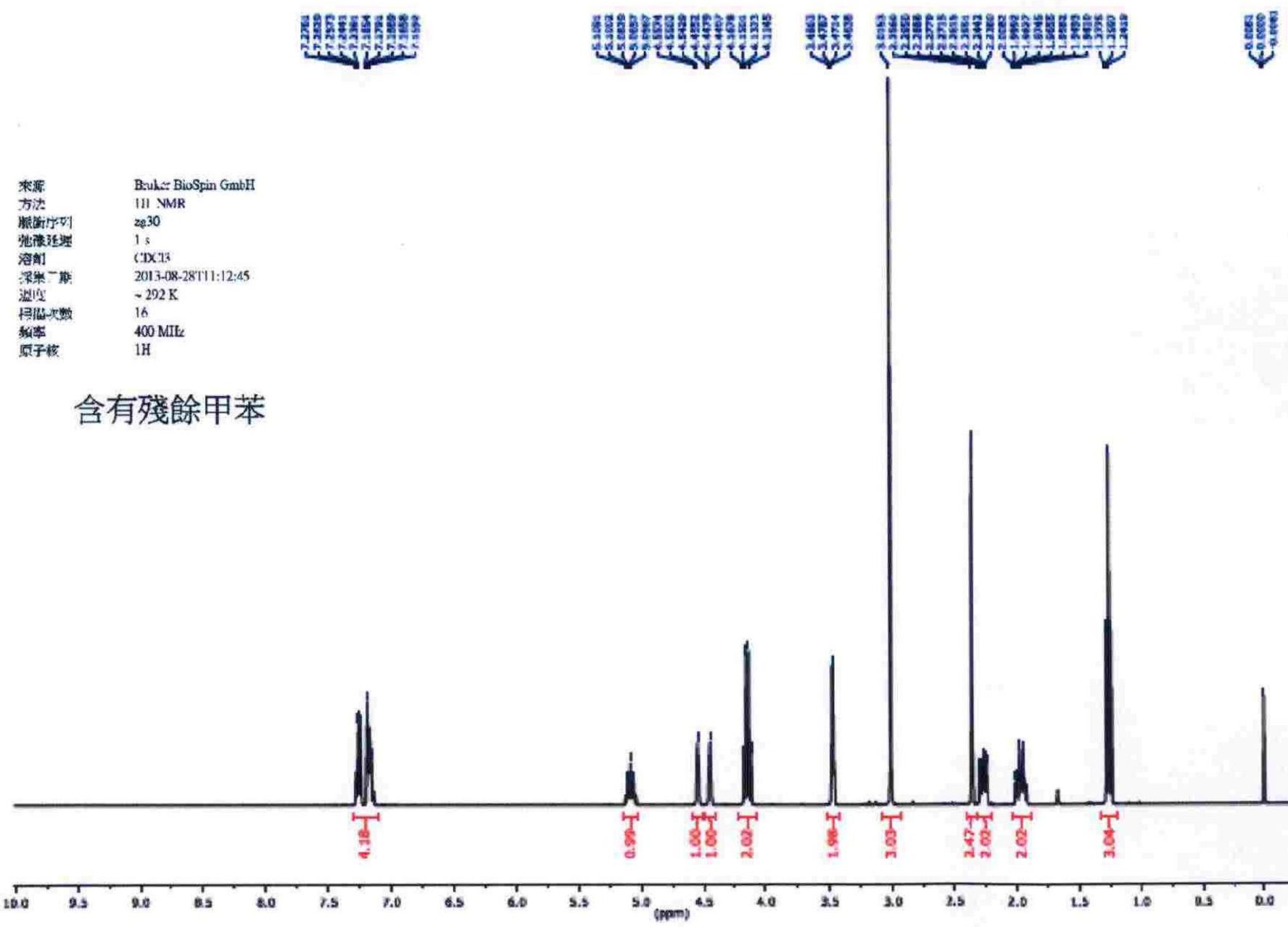


圖5

式13（(1R,2R,4S,5S,7s)-乙基7-氰基-3-氧雜-9-氮雜三環[3.3.1.02,4]壬烷-9-羧酸酯）

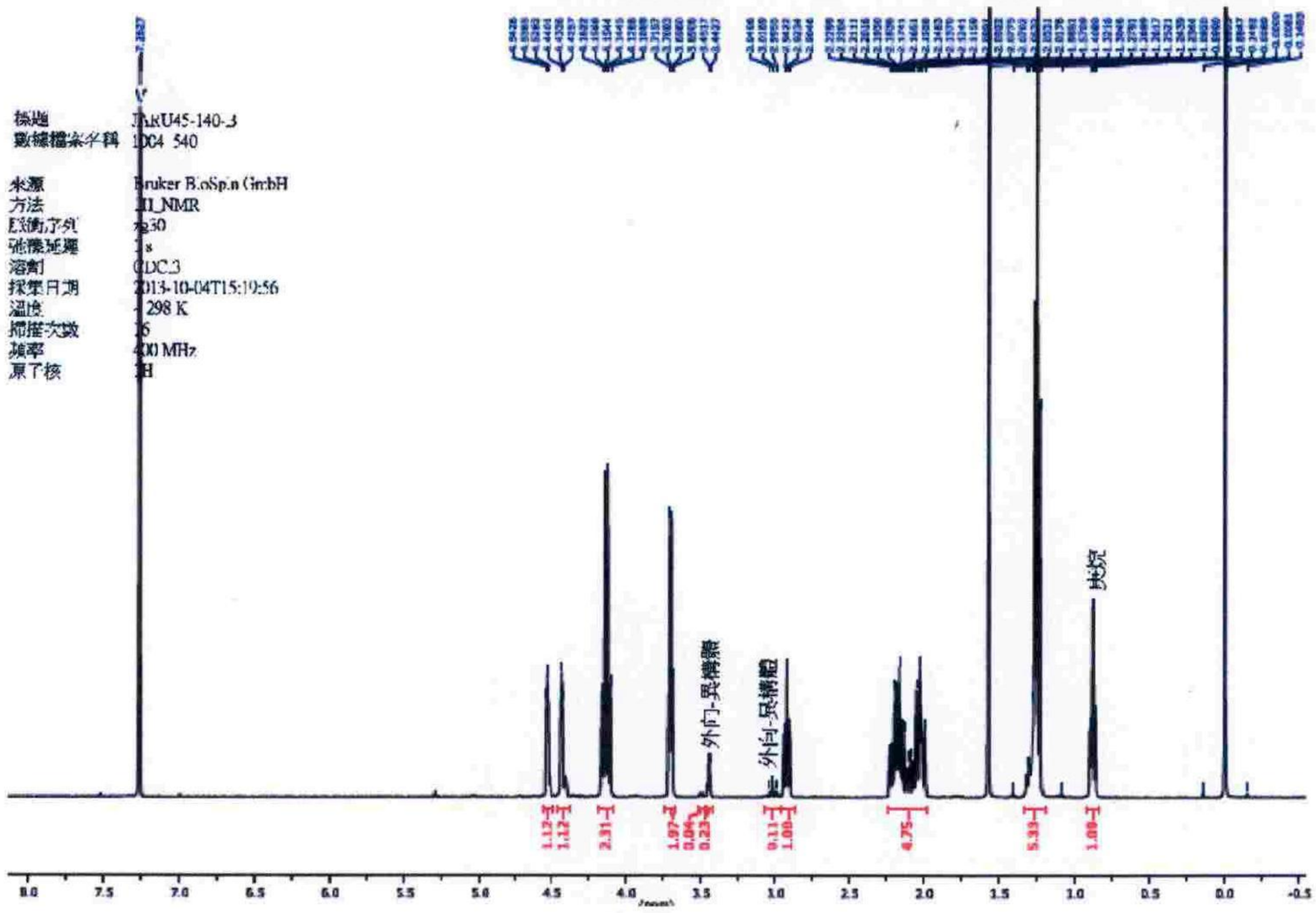


圖6

式12（rac-(2R,3S,6S,7aS)-乙基3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）

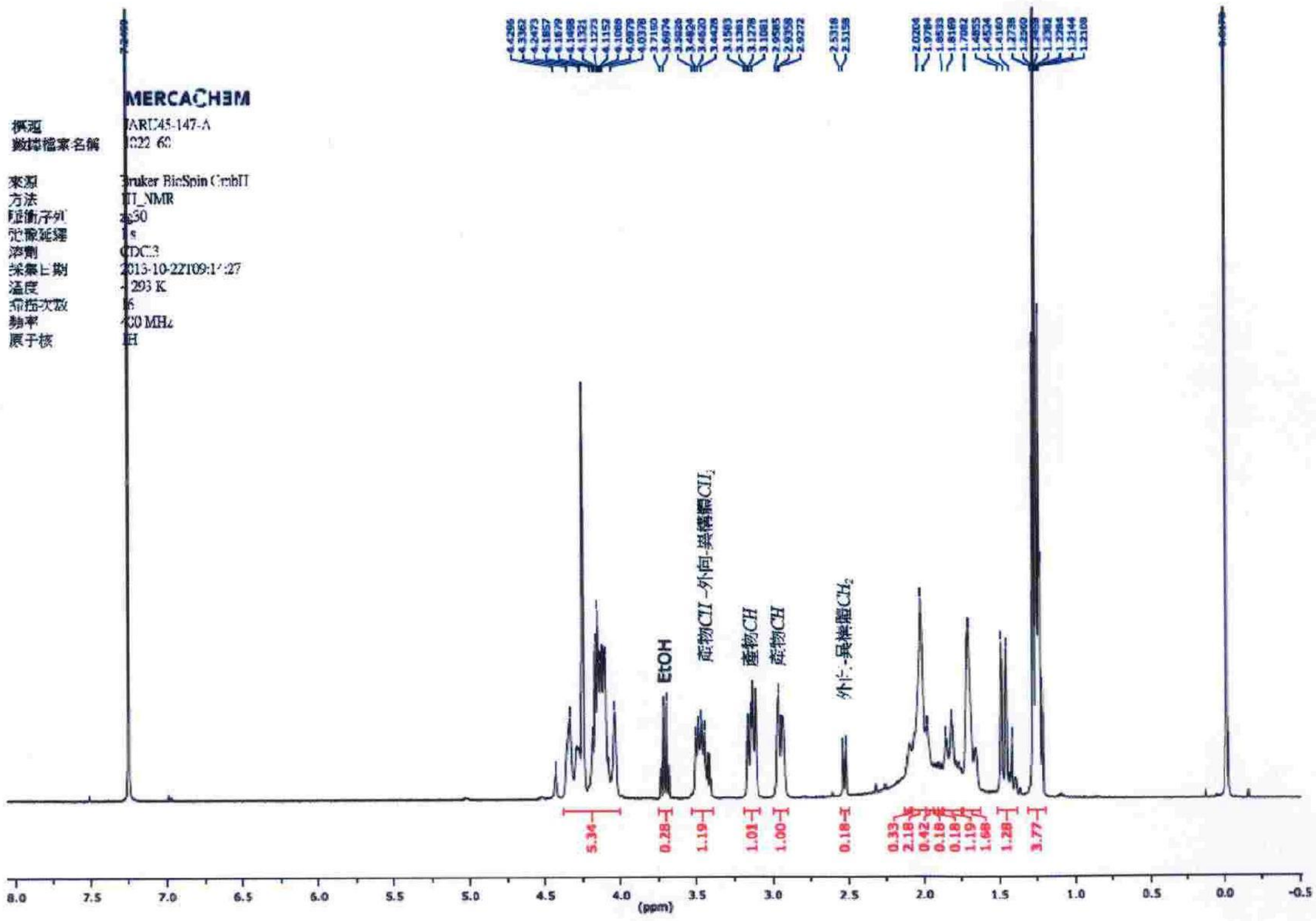


圖7

式11（rac-(2R,3S,6S,7aS)-乙基3-羥基八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）

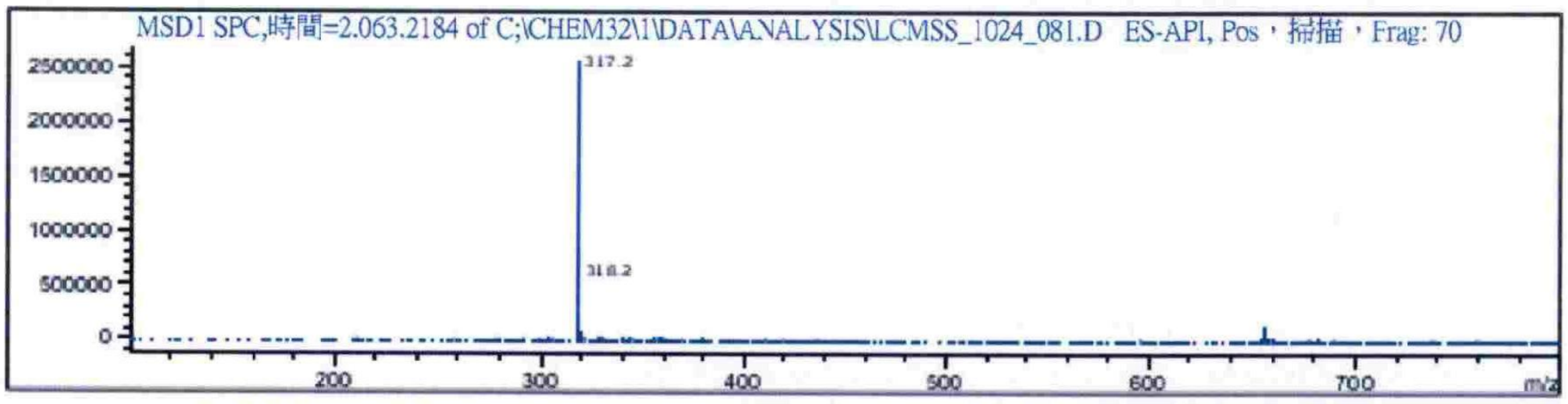


圖8A

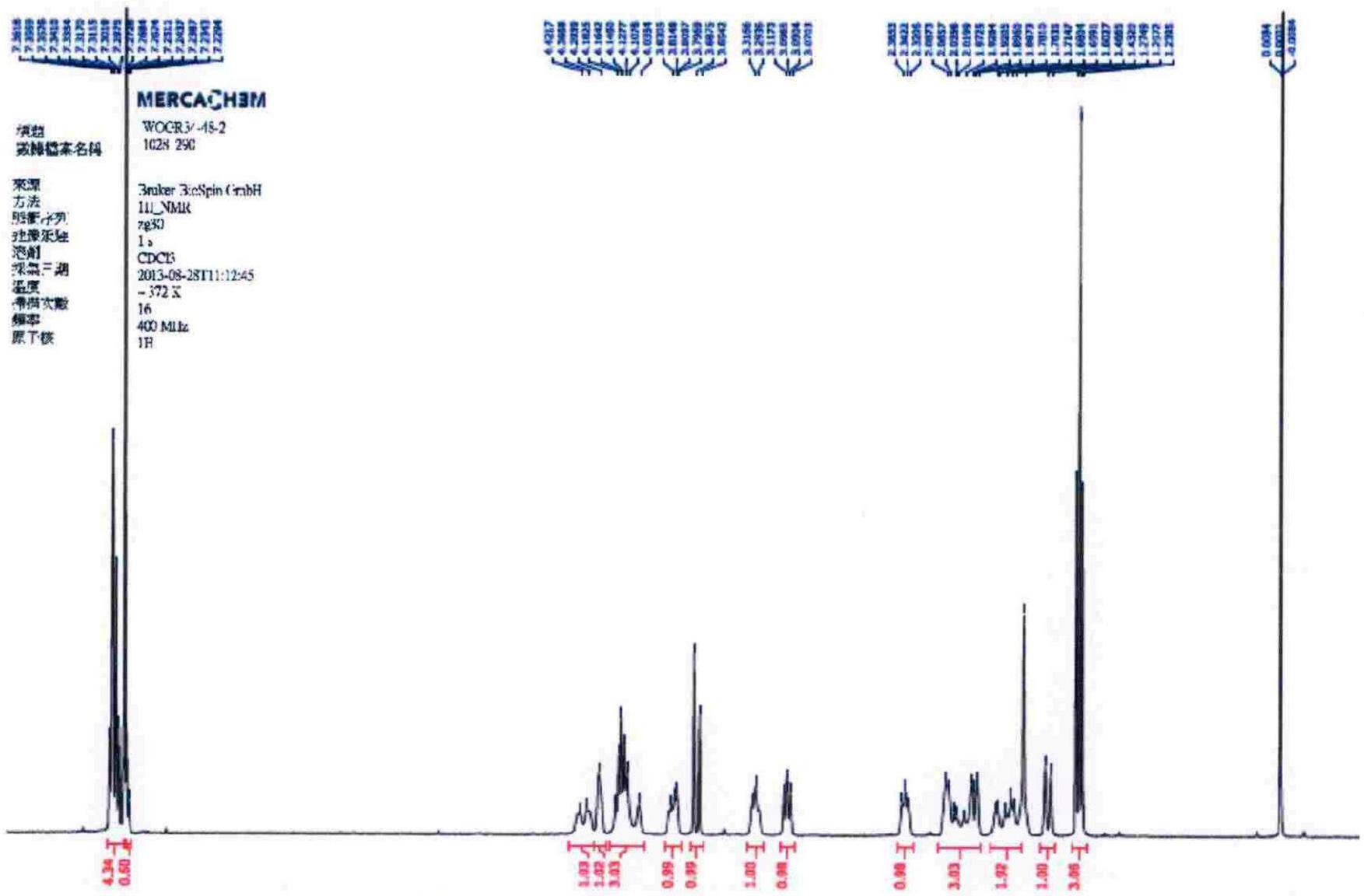
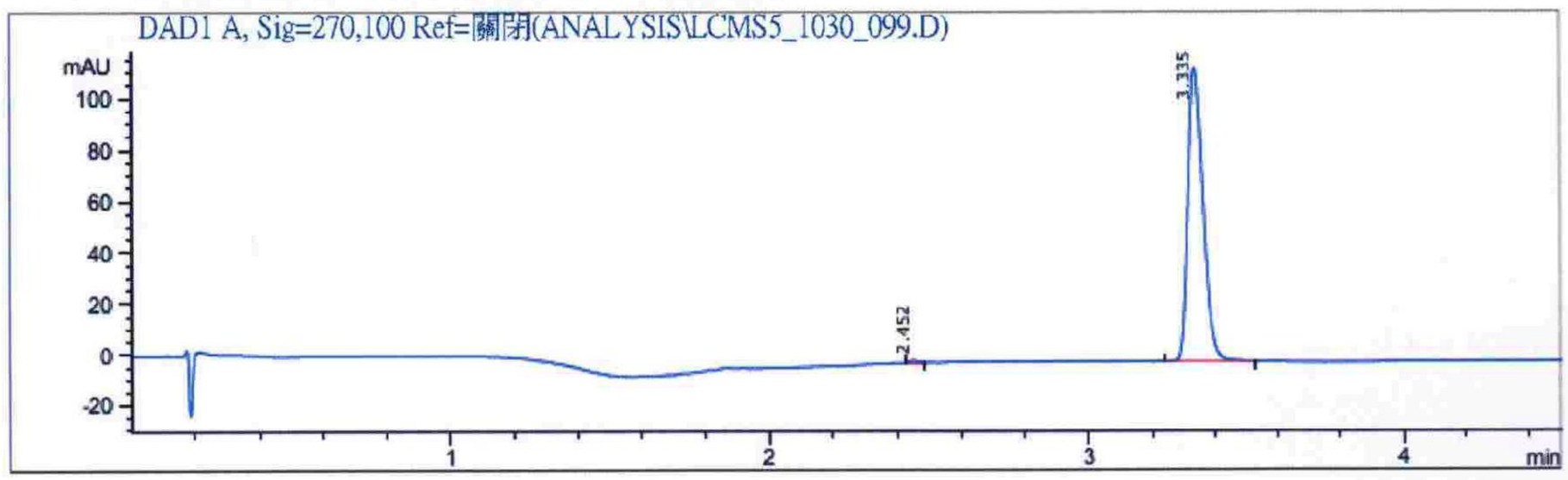


圖8B

式10（rac-(2R,3R,6S,7aS)-乙基4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）



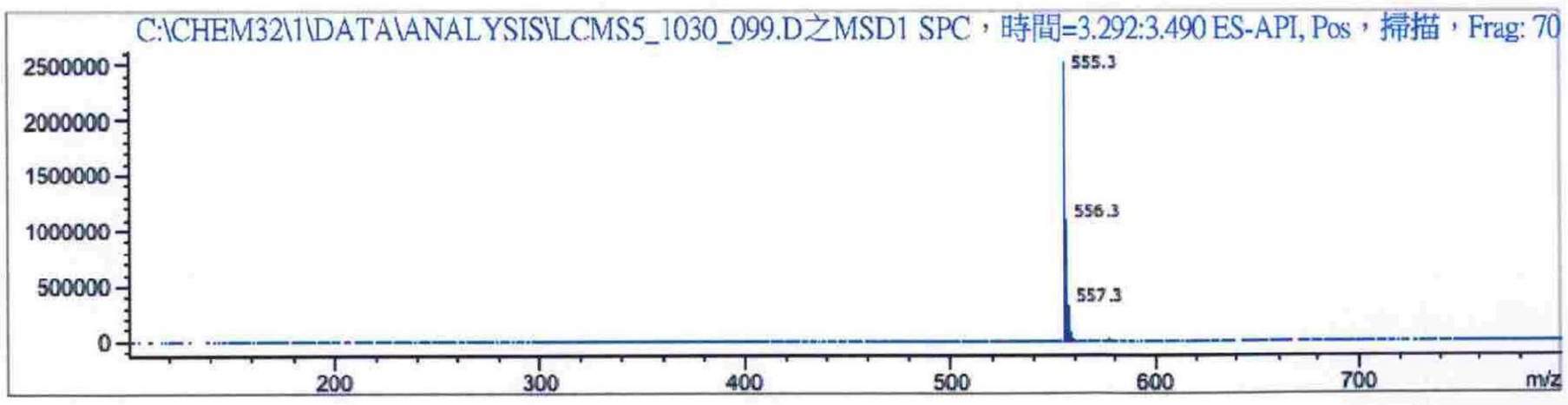


圖9A

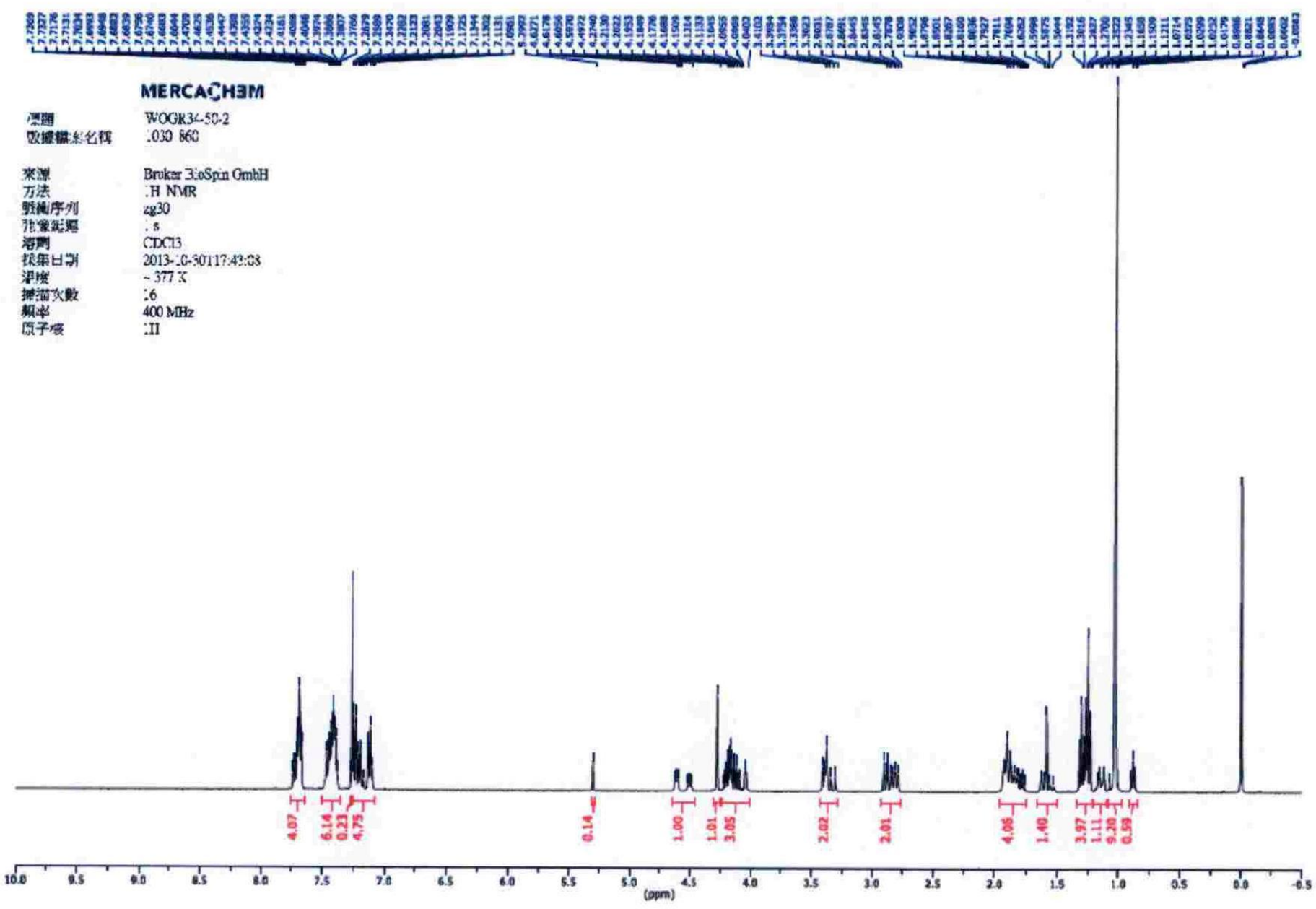

MERCACHEM
WOGR34-50-2
.030 860
Bruker BioSpin GmbH
1H NMR
zg30
. s
CDCl3
2013-10-30117:43:03
~ 377 K
16
400 MHz
1H
4.07
6.14
0.23
4.75
0.14
1.00
1.01
3.05
2.02
2.01
4.05
1.40
3.97
1.11
9.20
0.59
(ppm)

圖9B

式9（rac-(2R,3R,6S,7aS)-4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶）

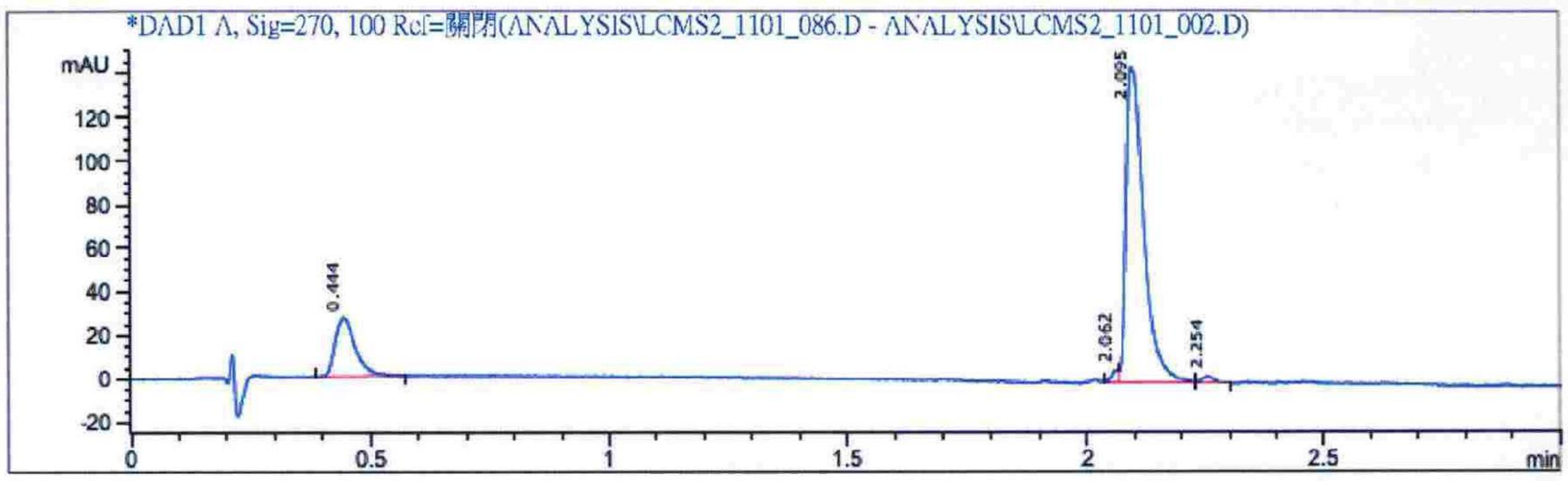


圖10

式8（rac-(2R,3R,6S,7aS)-三級丁基4-苄基-3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）

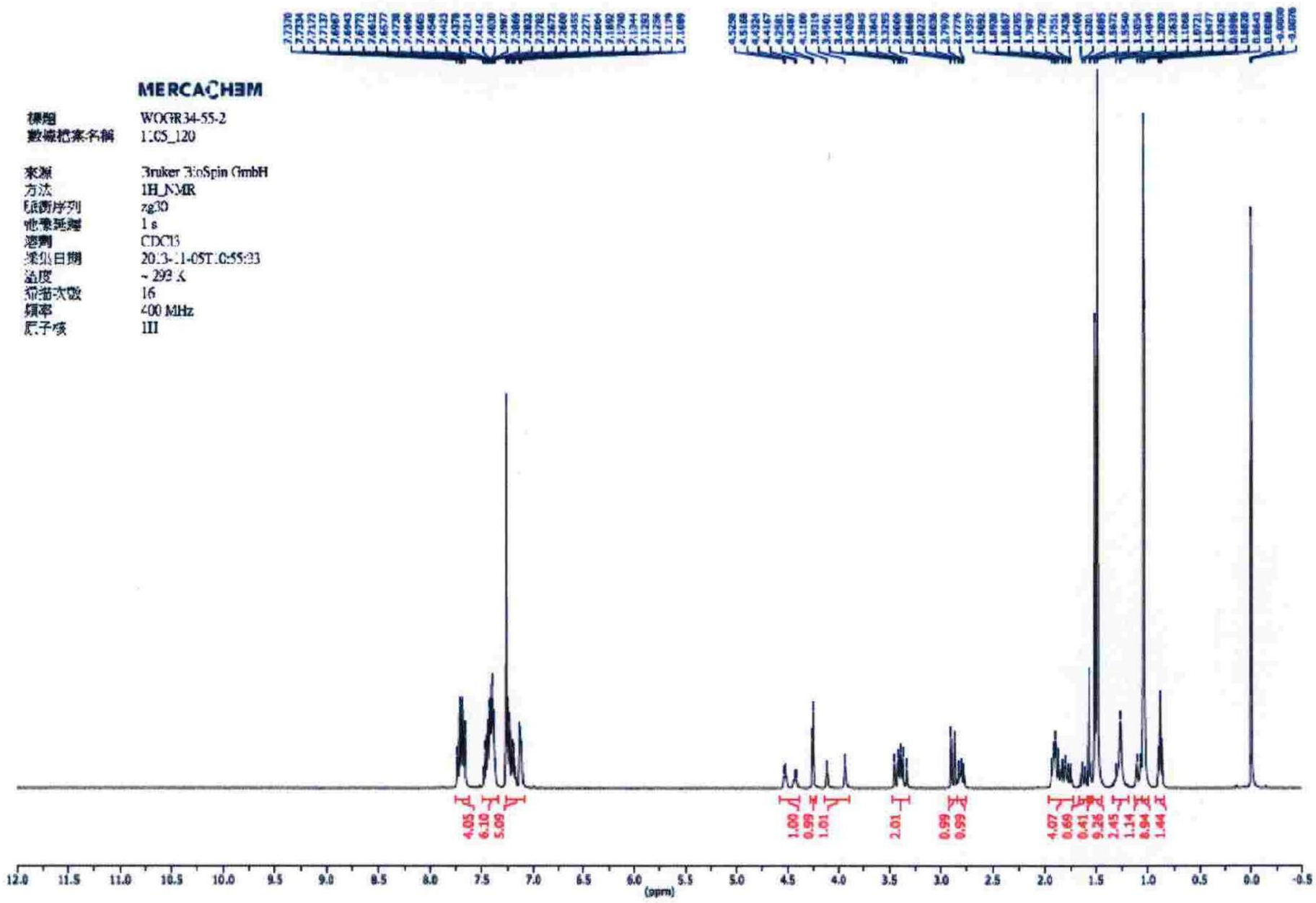
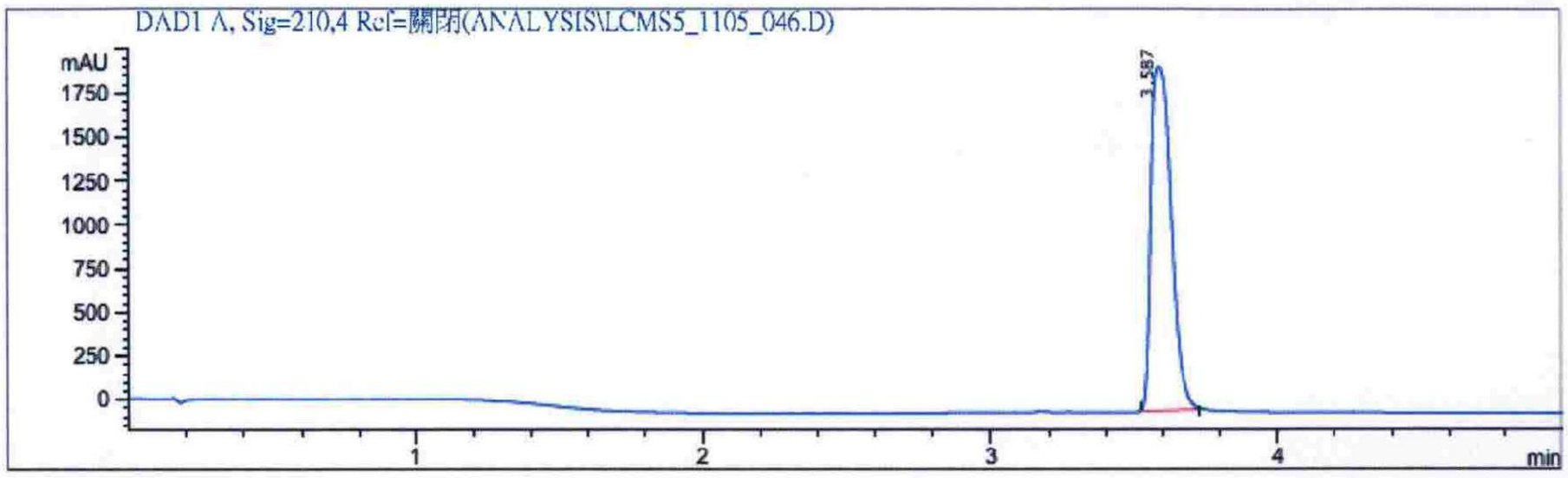


圖11A


DAD1 A, Sig=210,4 Ref=關閉(ANALYSIS\LCMS5_1105_046.D)
mAU
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
3.587
1
2
3
4
min

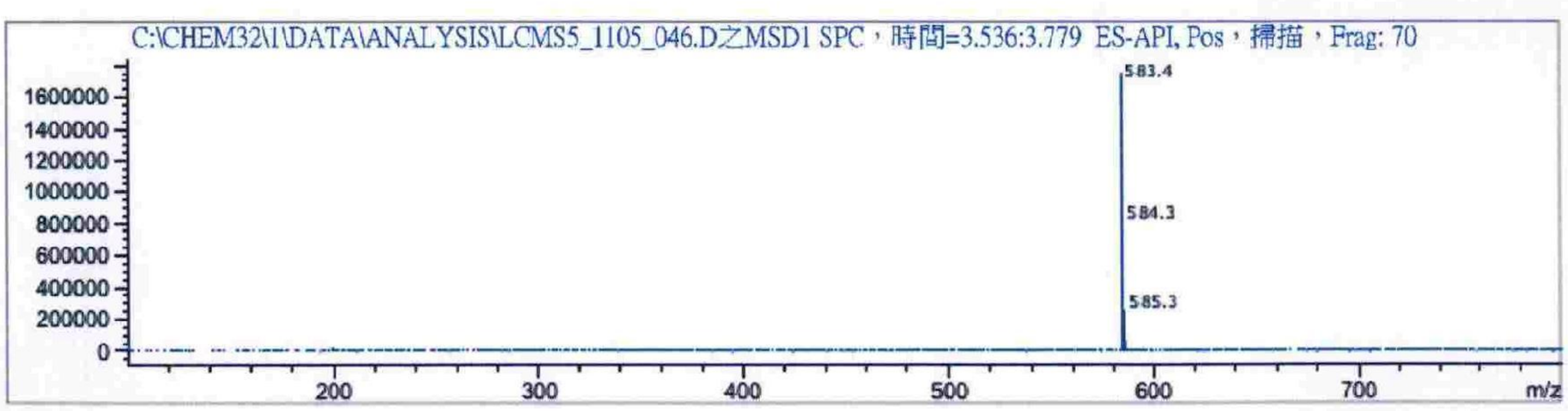

C:\CHEM32\1\DATA\ANALYSIS\LCMS5_1105_046.D之MSD1 SPC，時間=3.536:3.779 ES-API, Pos，掃描，Frag: 70
1600000
1400000
1200000
1000000
800000
600000
400000
200000
0
583.4
584.3
585.3
200
300
400
500
600
700
m/z

圖11B

式7（rac-(2R,3S,6S,7aS)-三級丁基3-((三級丁基二苯基矽基)氧基)八氫-1H-2,6-甲橋吡咯并[3,2-b]吡啶-1-羧酸酯）

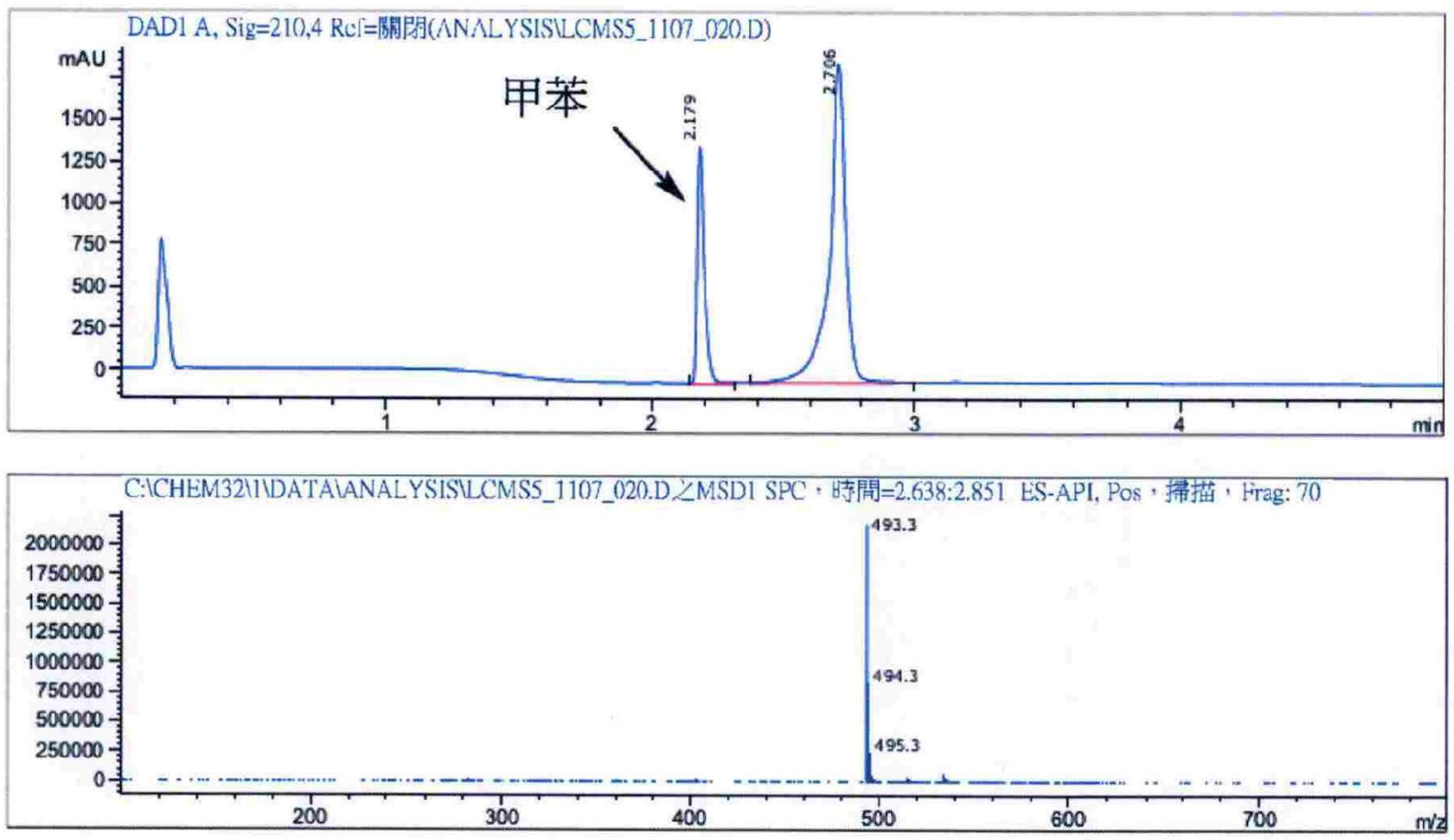


圖12A

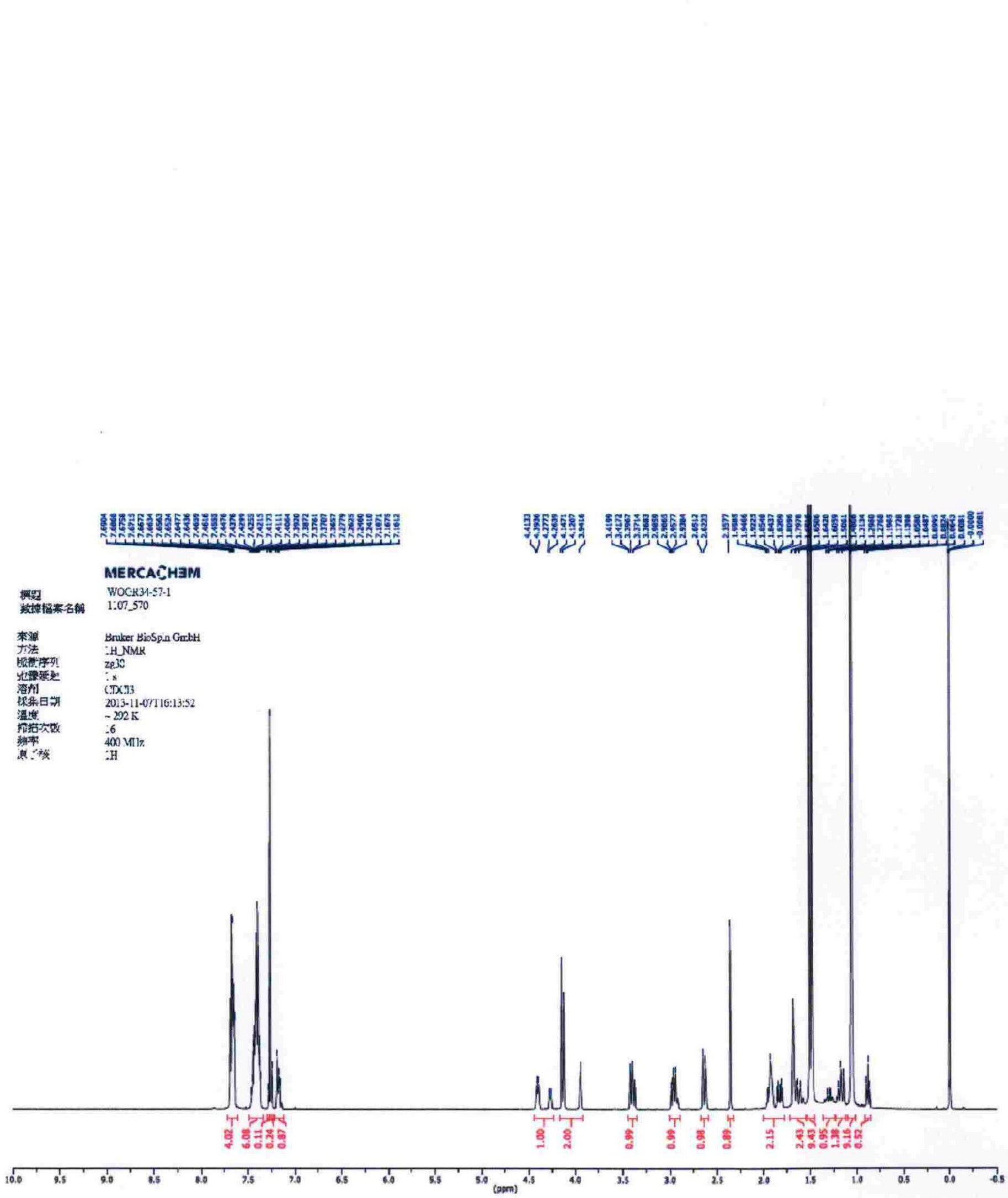

MERCACHEM
概型 WOGR34-57-1
數據檔案名稱 1107_570
來源 Bruker BioSpin GmbH
方法 1H_NMR
脈衝序列 zg30
光譜頻率 1 s
溶劑 CDCl3
採集日期 2013-11-07T16:13:52
溫度 ~ 292 K
掃描次數 16
頻率 400 MHz
原子核 1H
(ppm)

圖12B

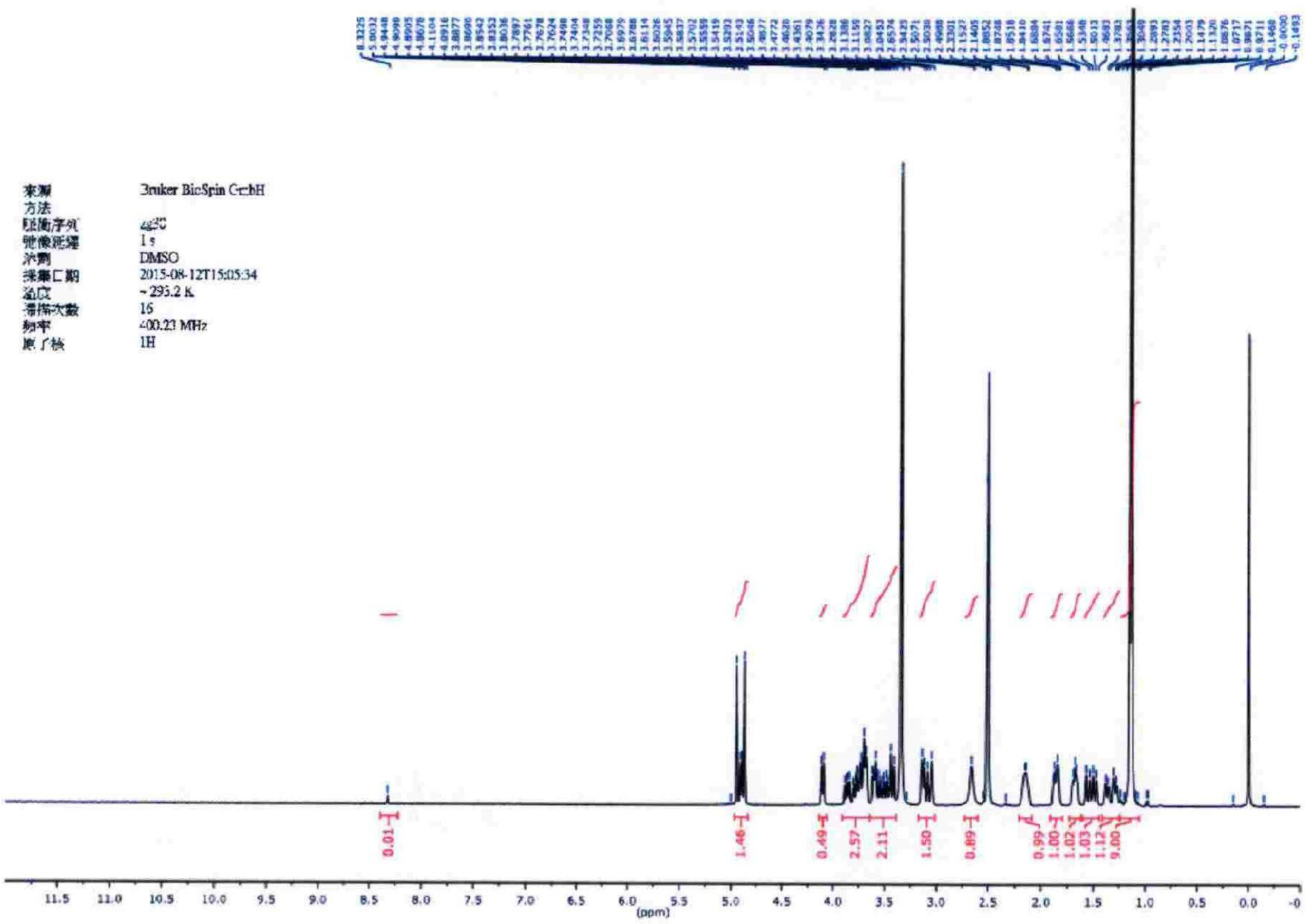

來源 Bruker BioSpin GmbH
方法
脈衝序列 zg30
弛豫延遲 1 s
溶劑 DMSO
採集日期 2015-08-12T15:05:34
溫度 ~293.2 K
掃描次數 16
頻率 400.23 MHz
原子核 1H
8.3225
5.0032
4.9448
4.9299
4.8995
4.8678
4.1104
4.0916
3.8877
3.8690
3.8542
3.8353
3.8036
3.7897
3.7761
3.7678
3.7624
3.7498
3.7404
3.7348
3.7255
3.7068
3.6979
3.6788
3.6114
3.5926
3.5945
3.5837
3.5702
3.5559
3.5419
3.5293
3.5143
3.5046
3.4857
3.4772
3.4620
3.4361
3.4079
3.3426
3.2828
3.1386
3.1159
3.0827
2.0453
2.0574
2.0425
2.5071
2.5039
2.4988
2.3301
2.1527
2.1405
2.0852
1.8748
1.8518
1.8410
1.8304
1.8741
1.6581
1.5668
1.5348
1.5013
1.4693
1.3783
1.3643
1.3040
1.2893
1.2783
1.2354
1.2003
1.1479
1.1320
1.0876
1.0717
0.8871
0.8711
0.1448
-0.0000
-0.1493
0.01
1.46
0.49
2.57
2.11
1.50
0.89
0.99
1.00
1.02
1.03
1.12
9.00
11.5
11.0
10.5
10.0
9.5
9.0
8.5
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
(ppm)

圖13

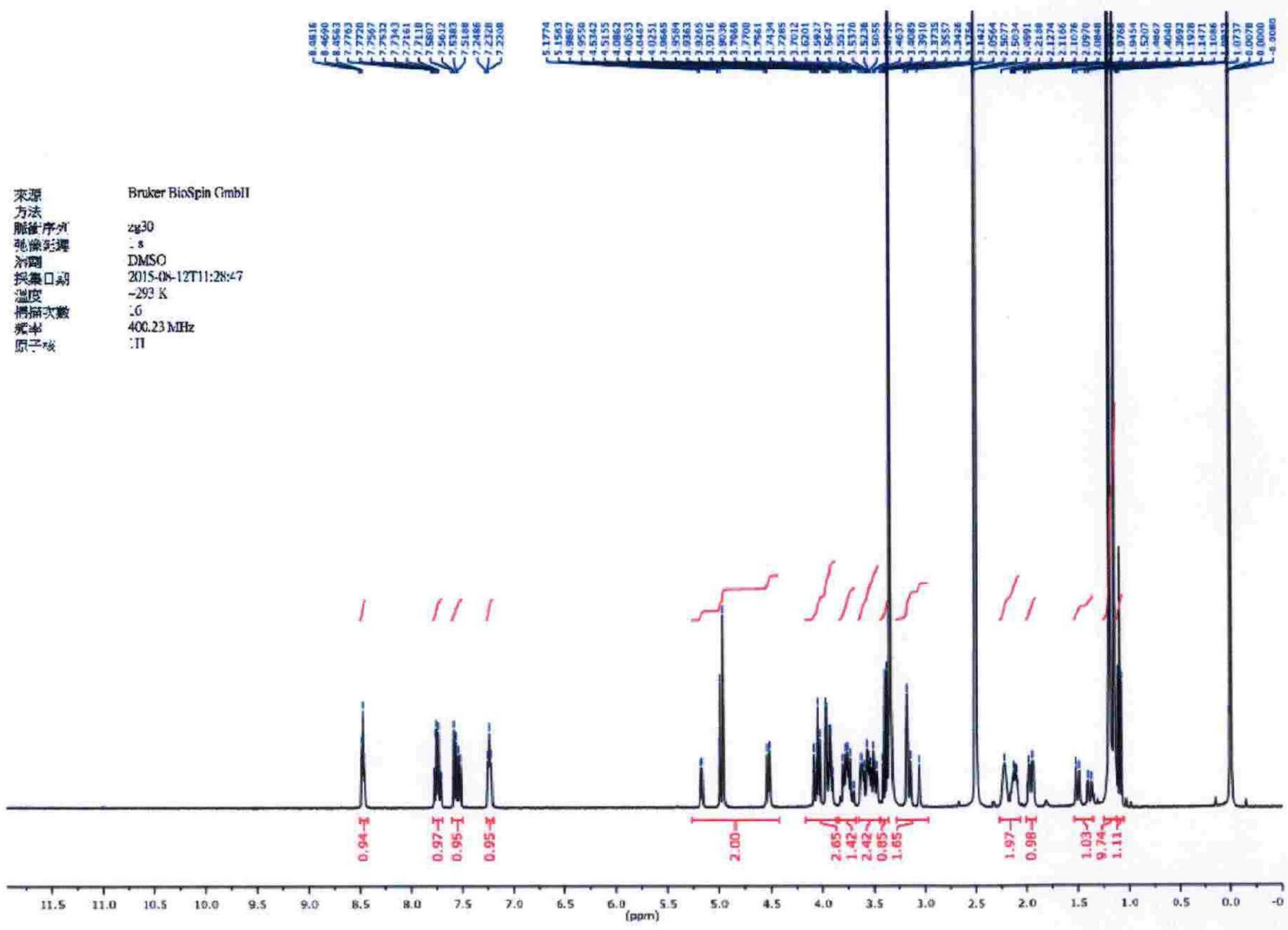

來源 Bruker BioSpin GmbH
方法
脈衝序列 zg30
弛豫延遲 1 s
溶劑 DMSO
採集日期 2015-08-12T11:28:47
溫度 ~293 K
掃描次數 16
頻率 400.23 MHz
原子核 1H
0.94
0.97
0.95
0.95
2.00
2.65
1.42
2.42
0.85
1.65
1.97
0.98
1.03
9.74
1.11
(ppm)

圖14

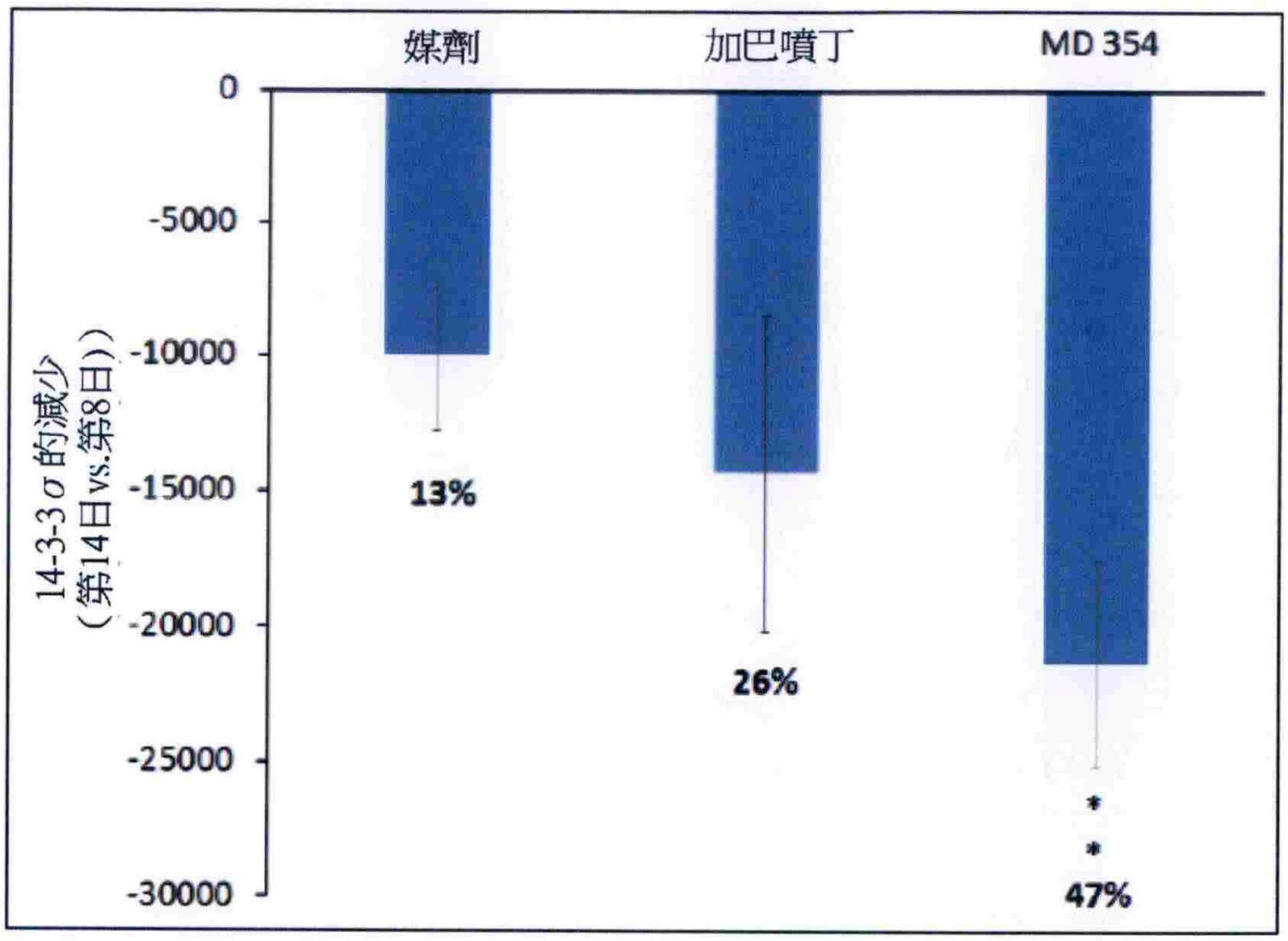

媒劑
加巴噴丁
MD 354
0
-5000
-10000
-15000
-20000
-25000
-30000
14-3-3σ的減少
（第14日vs.第8日）
13%
26%
47%
*
*

圖15

220000
215000
210000
205000
200000
195000
190000
185000
180000
175000
170000
皮膚中的14-3-3σ量(pg/ml)
媒劑
加巴噴丁
MD-354

圖16

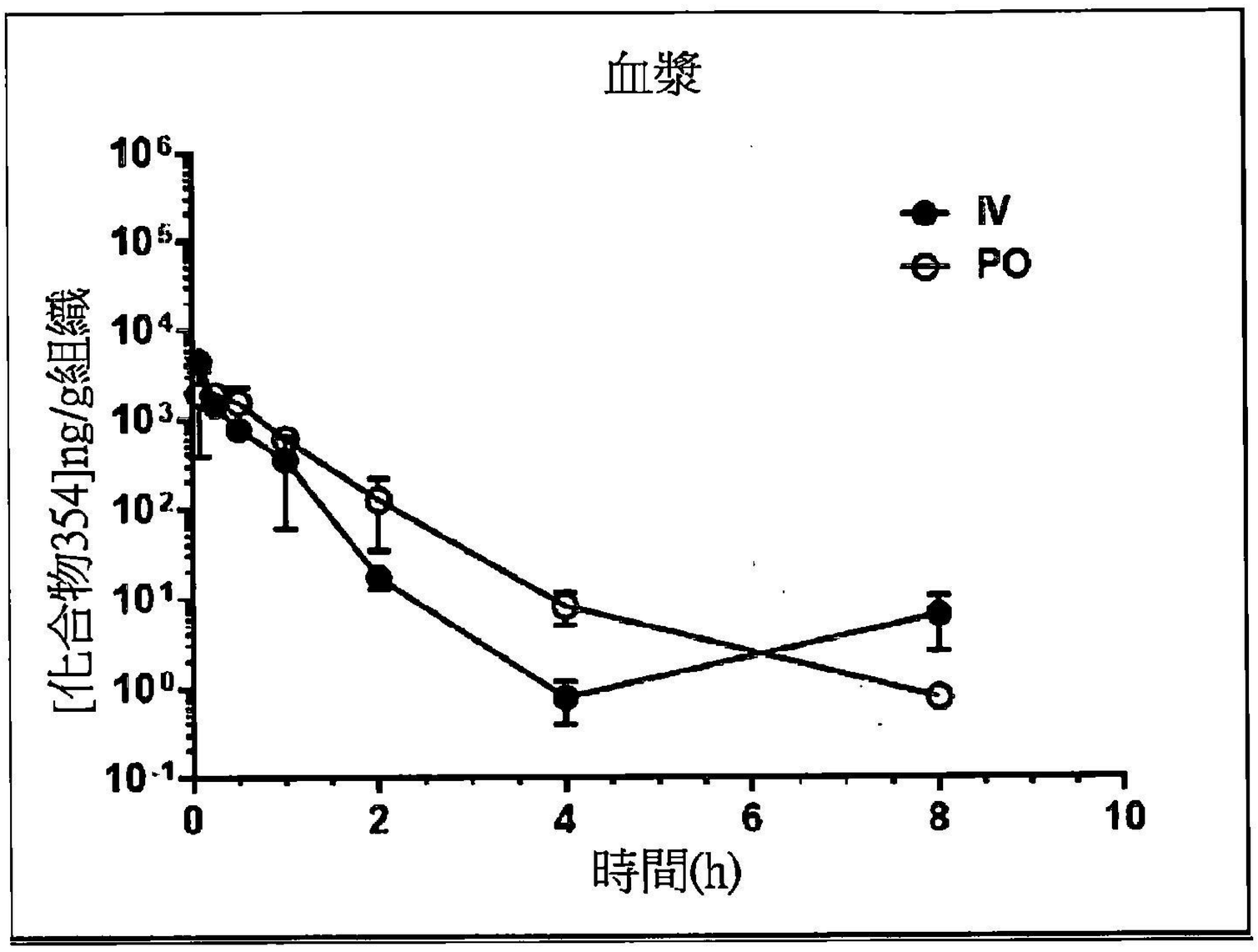

血漿
IV
PO
[化合物354]ng/g組織
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
10^{-1}
0
2
4
6
8
10
時間(h)

圖17

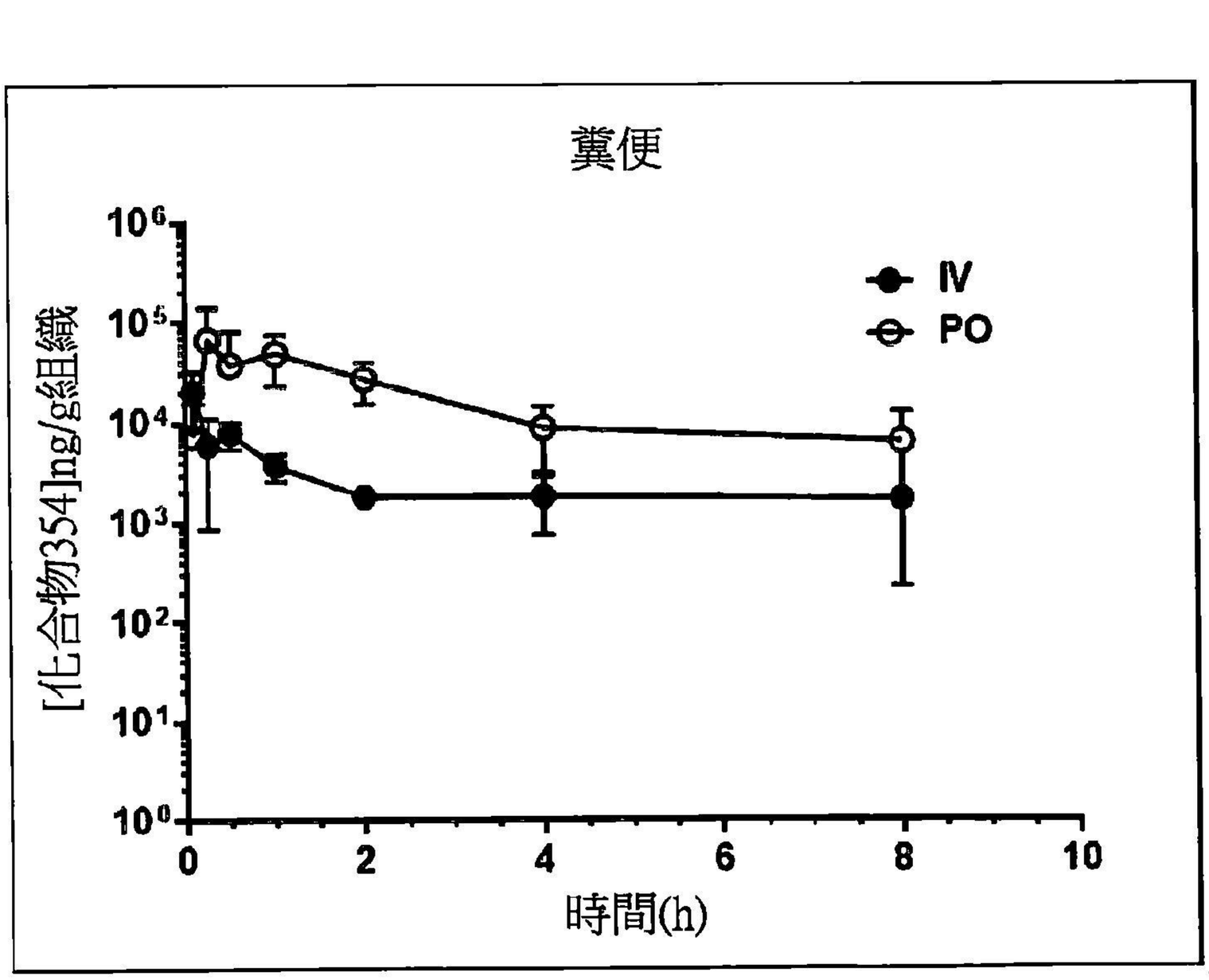

糞便
IV
PO
[化合物354]ng/g組織
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
10^0
0
2
4
6
8
10
時間(h)

圖18

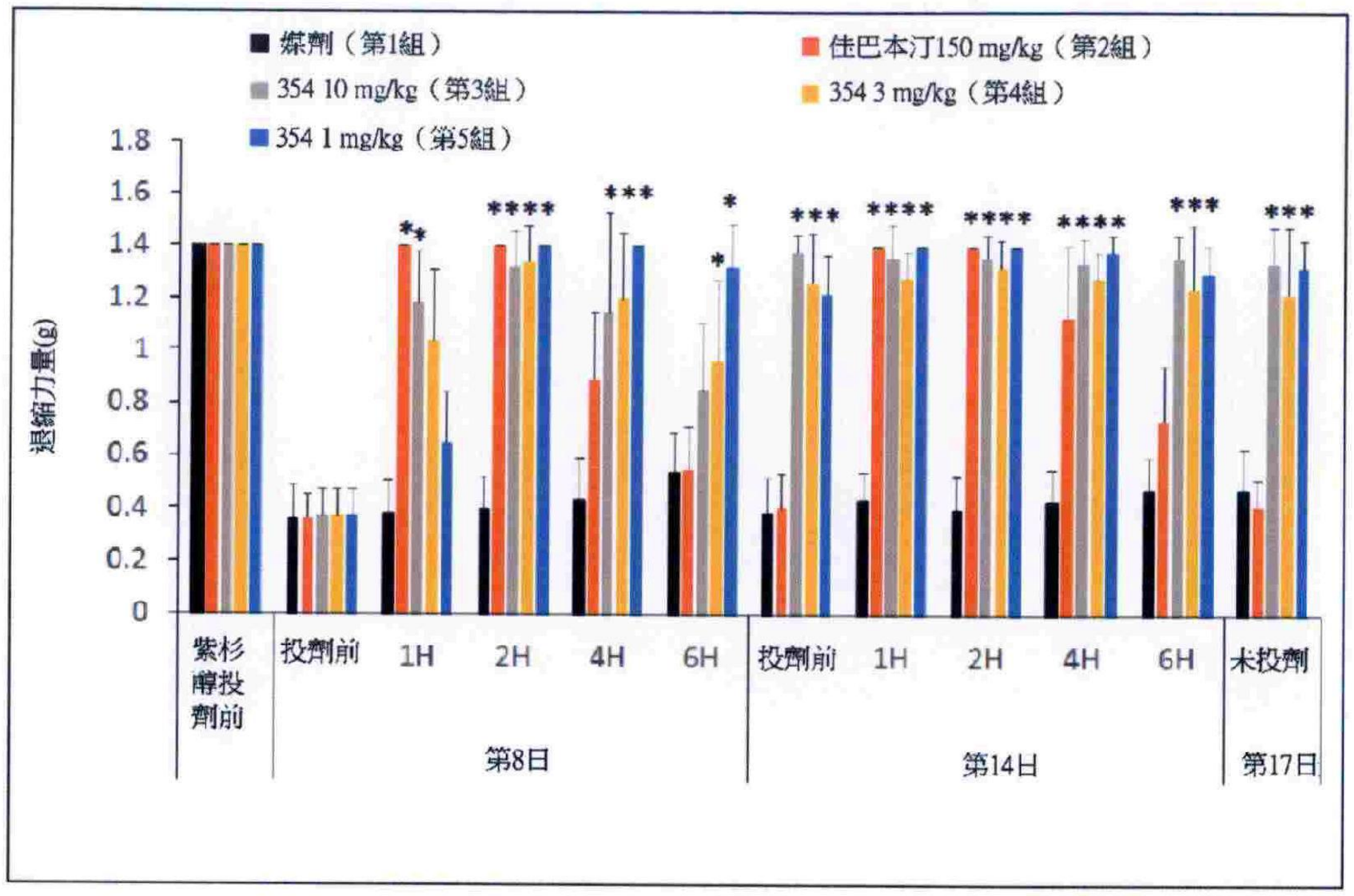

媒劑（第1組）
佳巴本汀150 mg/kg（第2組）
354 10 mg/kg（第3組）
354 3 mg/kg（第4組）
354 1 mg/kg（第5組）
退縮力量(g)
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
紫杉醇投劑前
投劑前
1H
2H
4H
6H
投劑前
1H
2H
4H
6H
未投劑
第8日
第14日
第17日

圖19

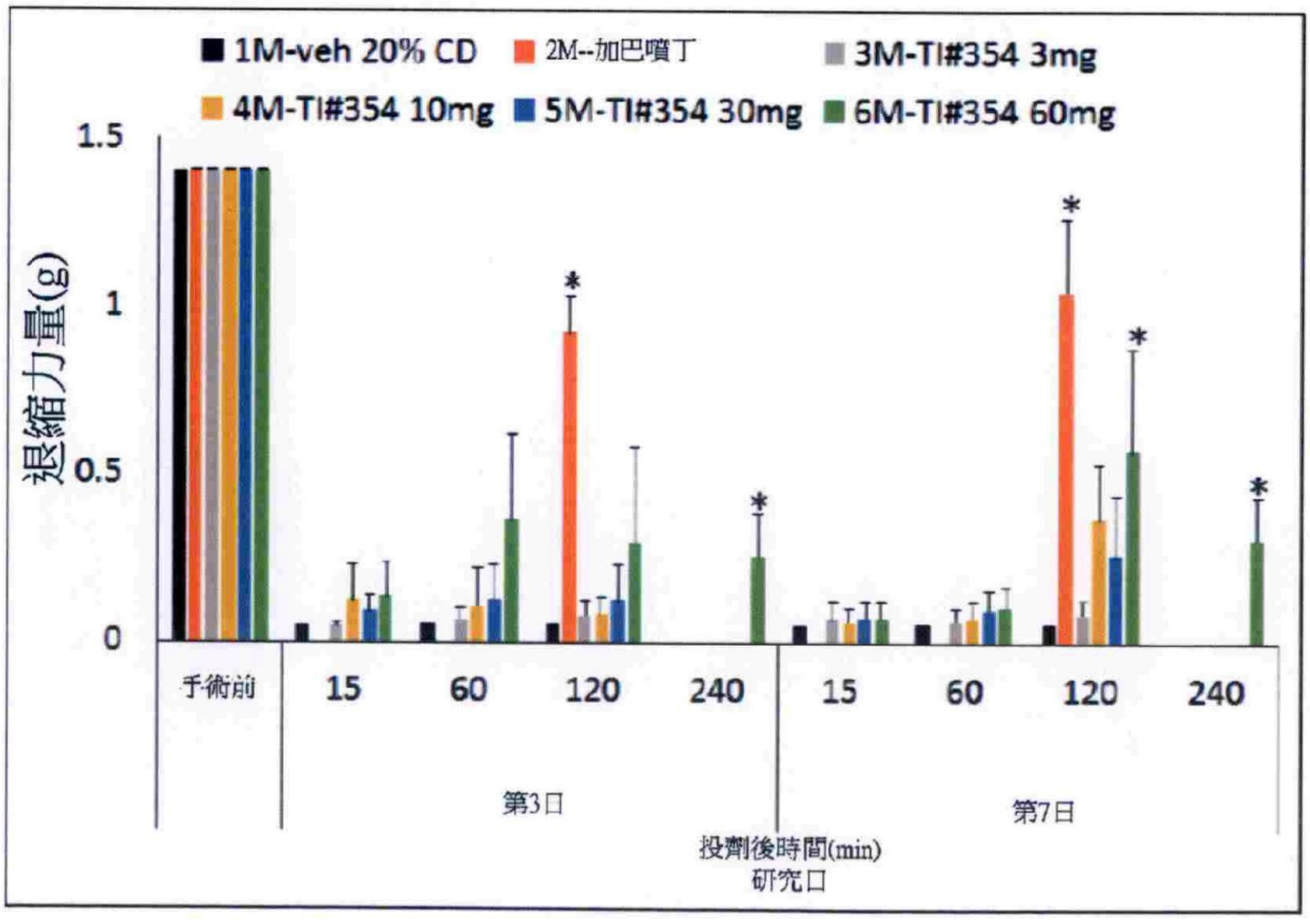

1M-veh 20% CD
2M--加巴噴丁
3M-TI#354 3mg
4M-TI#354 10mg
5M-TI#354 30mg
6M-TI#354 60mg
退縮力量(g)
1.5
1
0.5
0
手術前
15
60
120
240
15
60
120
240
第3日
第7日
投劑後時間(min)
研究口

圖20

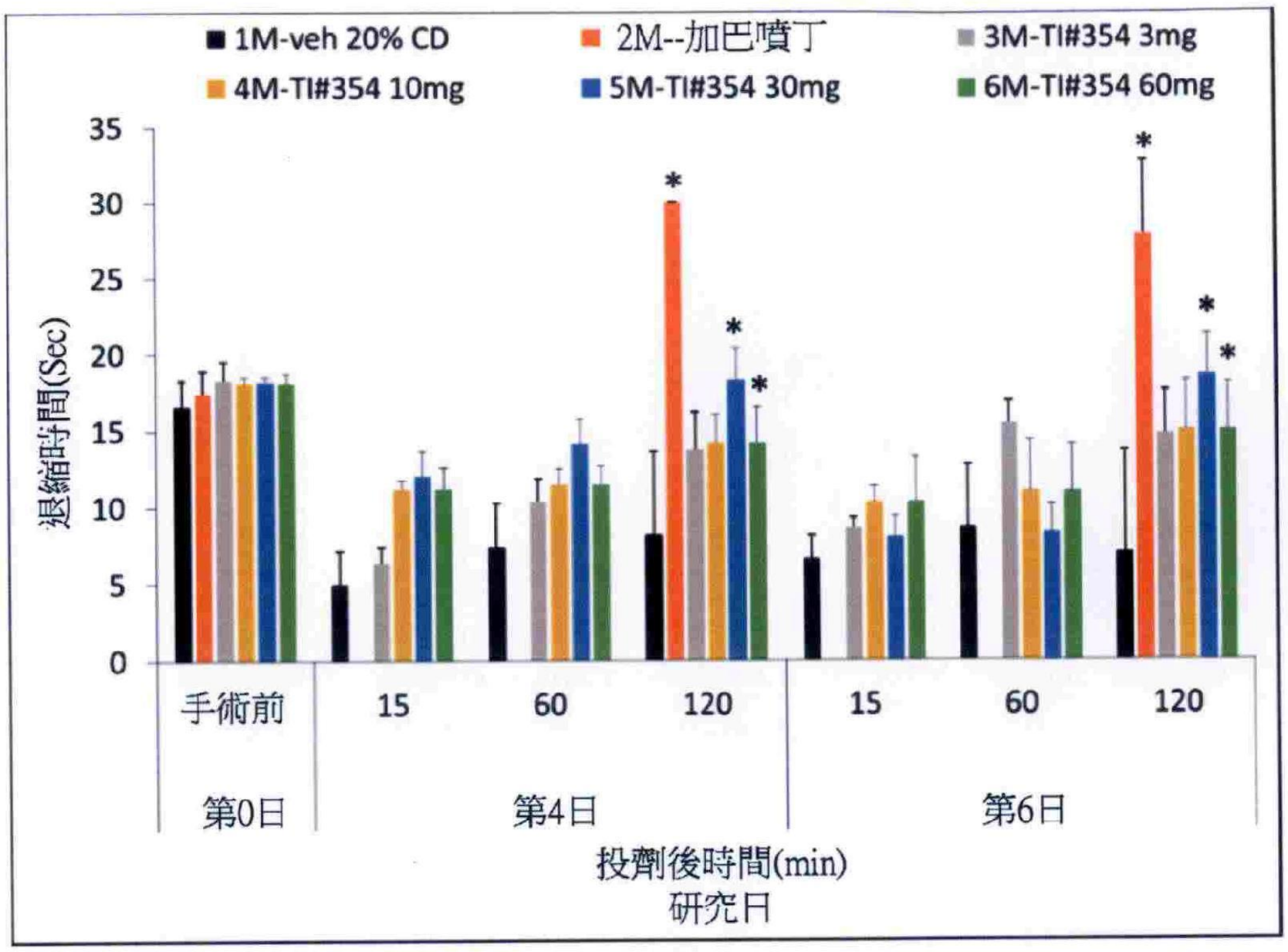

1M-veh 20% CD
2M--加巴噴丁
3M-TI#354 3mg
4M-TI#354 10mg
5M-TI#354 30mg
6M-TI#354 60mg
退縮時間(Sec)
35
30
25
20
15
10
5
0
手術前
15
60
120
15
60
120
第0日
第4日
第6日
投劑後時間(min)
研究日

圖21

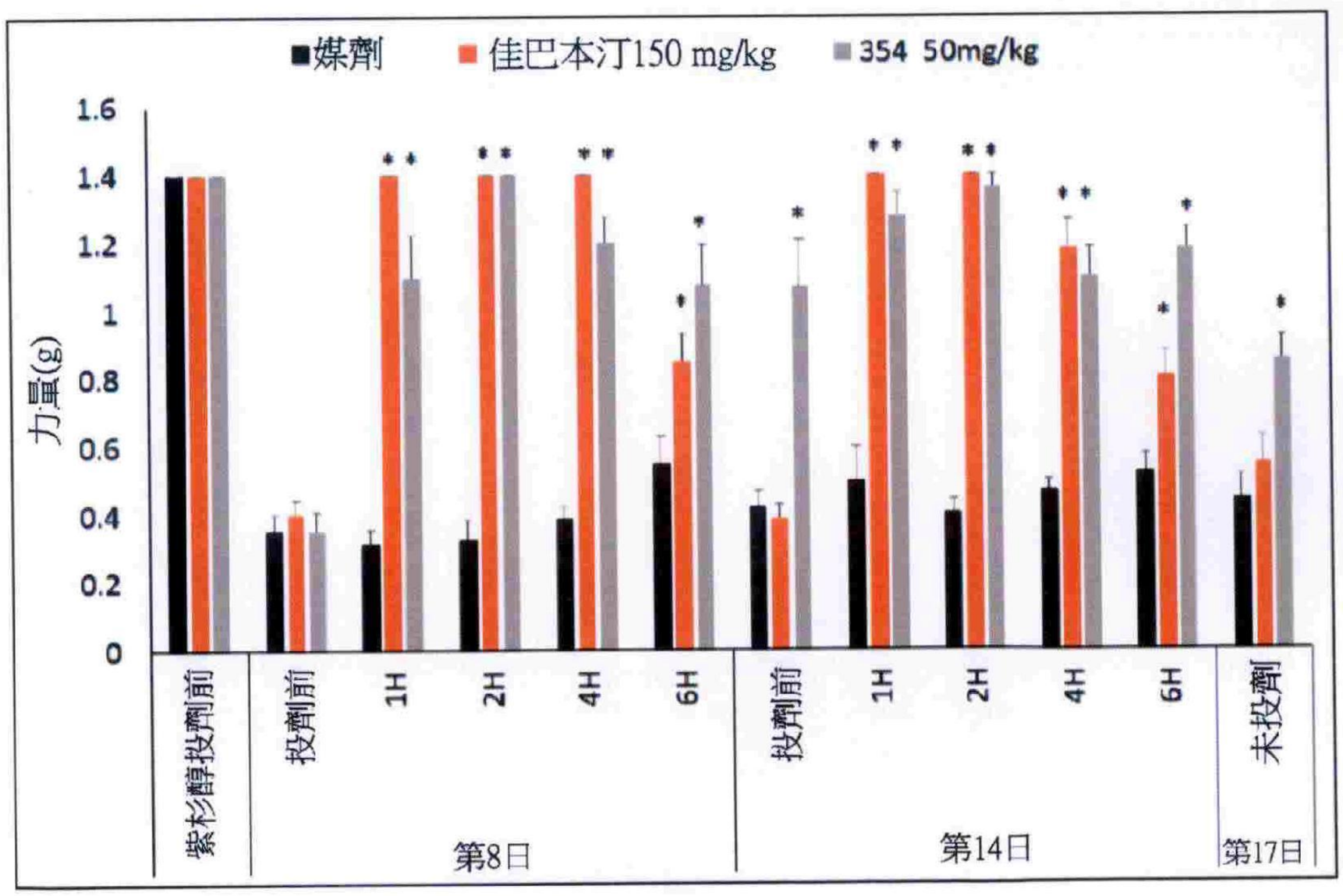

媒劑
佳巴本汀150 mg/kg
354 50mg/kg
力量(g)
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
紫杉醇投劑前
投劑前
1H
2H
4H
6H
投劑前
1H
2H
4H
6H
未投劑
第8日
第14日
第17日

圖22

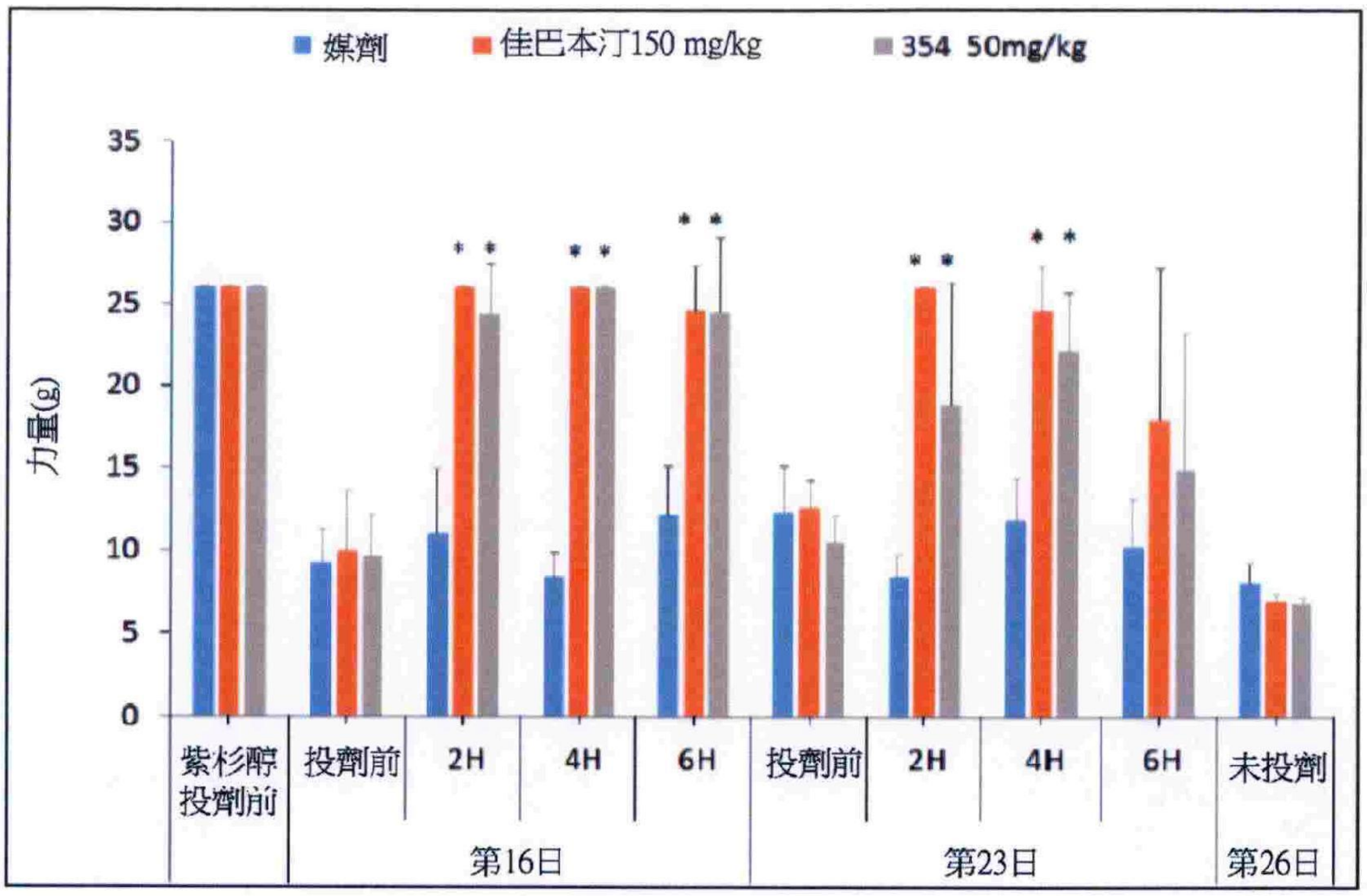

媒劑
佳巴本汀150 mg/kg
354 50mg/kg
力量(g)
35
30
25
20
15
10
5
0
紫杉醇投劑前
投劑前
2H
4H
6H
投劑前
2H
4H
6H
未投劑
第16日
第23日
第26日

圖23

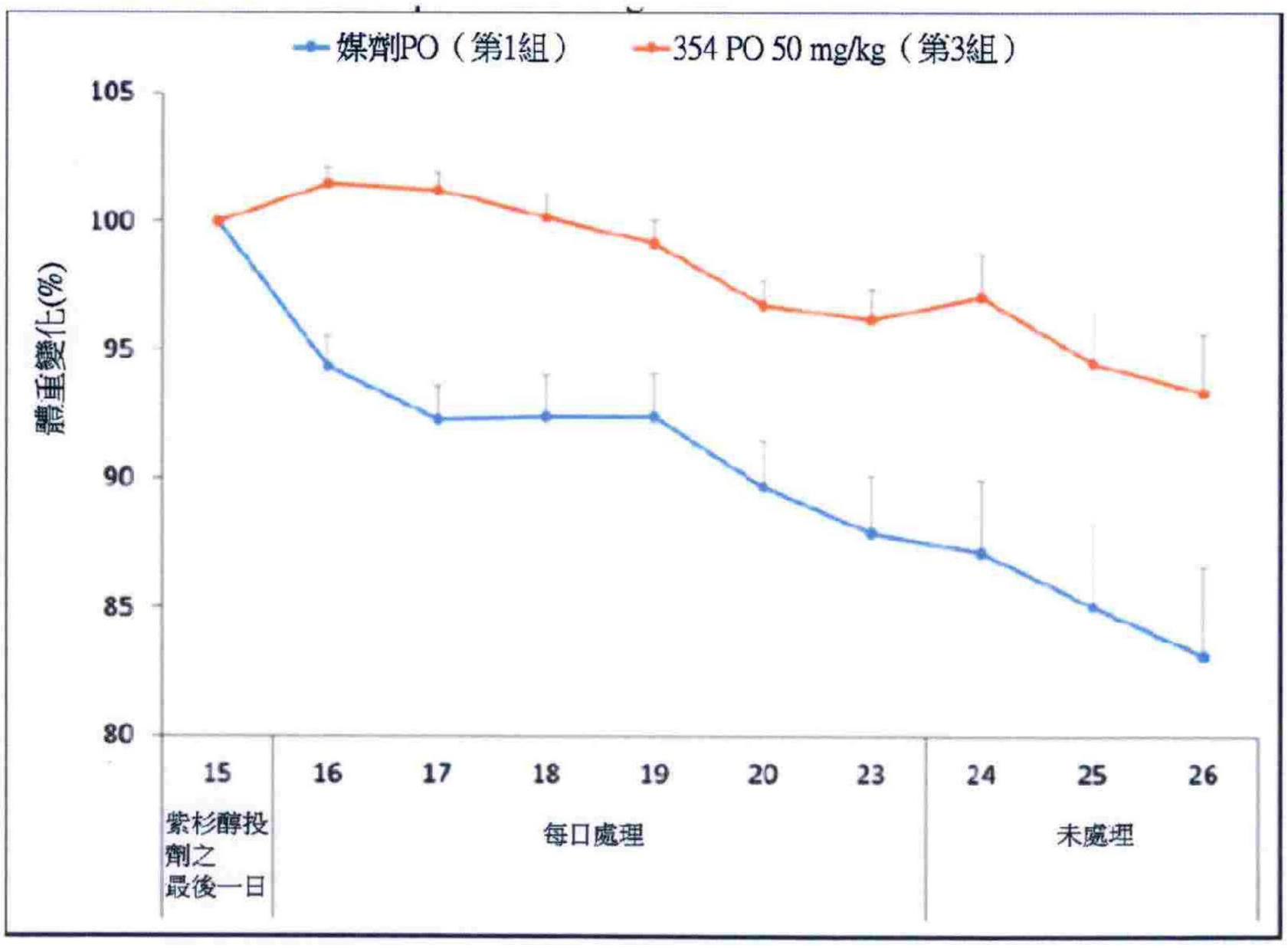

媒劑PO（第1組）
354 PO 50 mg/kg（第3組）
體重變化(%)
105
100
95
90
85
80
15
16
17
18
19
20
23
24
25
26
紫杉醇投劑之最後一日
每口處理
未處理

圖24

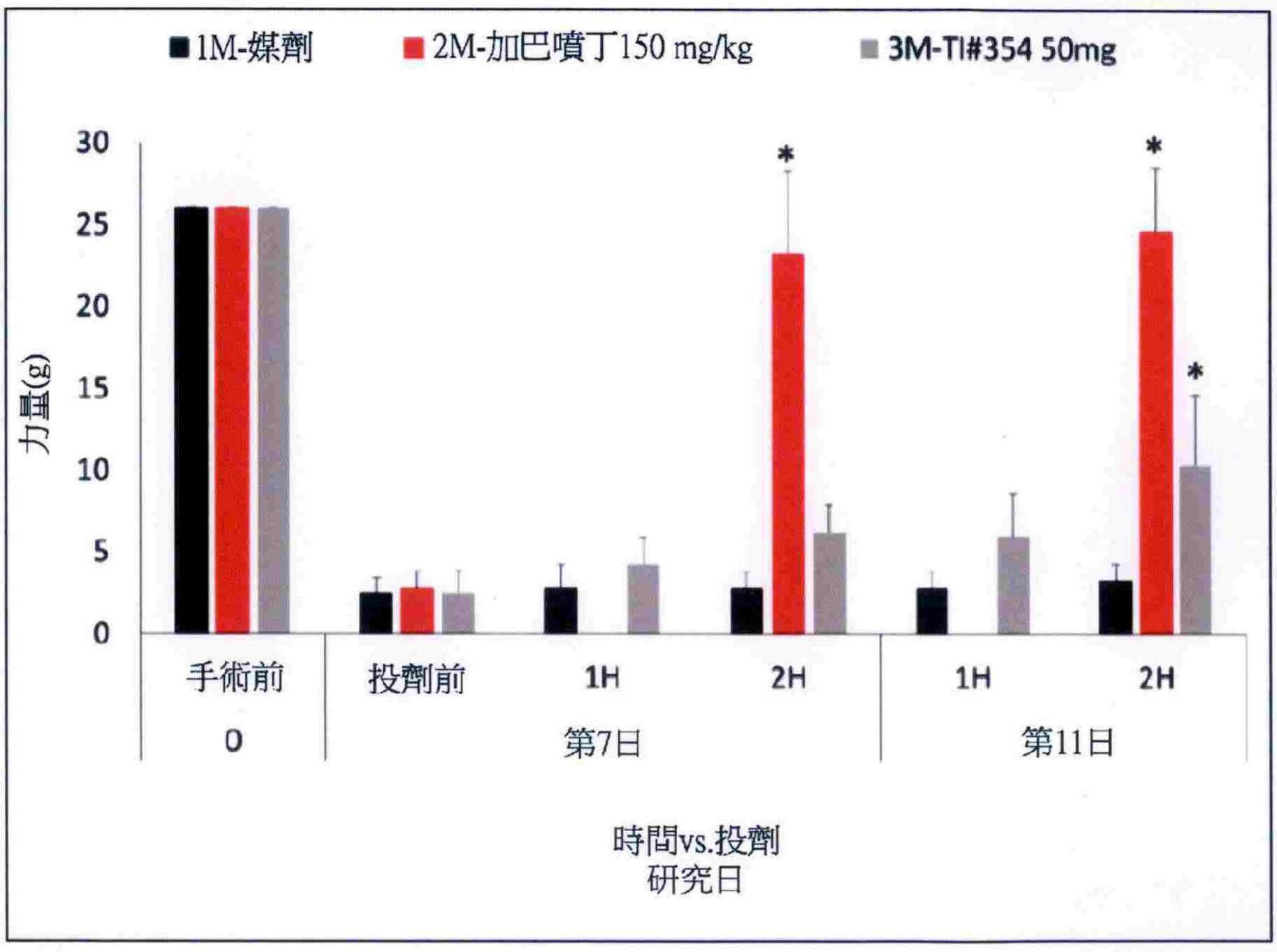

1M-媒劑
2M-加巴噴丁150 mg/kg
3M-TI#354 50mg
力量(g)
30
25
20
15
10
5
0
*
*
*
手術前
投劑前
1H
2H
1H
2H
0
第7日
第11日
時間vs.投劑
研究日

圖25